

**UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DU LANGUEDOC**

**ESSAIS D'ANALYSE DE LA STABILISATION
DES COLLOIDES MINERAUX PAR LES
MACROMOLECULES EN MILIEU AQUEUX**

Présentée à l'Université des Sciences et Techniques
du Languedoc pour obtenir le grade :
Docteur ès-Sciences Physiques

PAR

ARLETTE DAUPLAN - BRESSOT

Docteur de 3^e cycle (chimie organique)

soutenue le 10 Juillet 1971 devant la commission d'examen

Jury	MM	J. SALVINIEN	Président
		R. JACQUIER	Assesseurs
		J. GUASTALLA	
		J. BONTOUX	

**UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES
DU LANGUEDOC**

**ESSAIS D'ANALYSE DE LA STABILISATION
DES COLLOIDES MINERAUX PAR LES
MACROMOLECULES EN MILIEU AQUEUX**

Présentée à l'Université des Sciences et Techniques
du Languedoc pour obtenir le grade :

Docteur ès-Sciences Physiques

PAR

ARLETTE DAUPLAN - BRESSOT

Docteur de 3^e cycle (chimie organique)

soutenue le 10 Juillet 1971 devant la commission d'examen

Jury MM J. SALVINIEN *Président*

R. JACQUIER

J. GUASTALLA

J. BONTOUX

} *Assesseurs*

LISTE DES PROFESSEURS DE L'UNIVERSITE DES SCIENCES ET TECHNIQUES DU LANGUEDOC

PRESIDENT

P. DUMONTET

Vice-Présidents

J. ROUZAUD, G. SAUMADE

Doyens honoraires de la Faculté des Sciences

P. MATHIAS, B. CHARLES, A. CASADEVALL

Professeurs honoraires de la Faculté des Sciences

R. JACQUES, M. CASTERAS, E. CARRIERE, E. TURRIERE, C. CAUQUIL
G. DENIZOT, J. GRANIER, Ch. BOUHET, J. MOTTE

Secrétaire Général

E. SIAU

Professeurs titulaires

MM. M. MOUSSERON	Chimie organique	MM. J. FALGUEIRETTES	Minéralogie
J.P. ROIG	Physique	J. REGNIER	Chimie
P. CHATELAIN	Minéralogie et Cristallographie	Mme J. CHARLES	Mathématiques
Mile O. TUZET	Zoologie	MM. P. CAILLON	Physique
MM. G. COUCHET	Mécanique supérieure	J. ROUZAUD	Chimie
J. SALVINIEN	Chimie Physique	Ch. SAUVAGE	Botanique
Mile A.M. VERGNOUX	Physique	H. CHRISTOL	Chimie (E.N.S.I.)
MM. J. AVIAS	Géologie	Mme G. VERNET	Biologie animale
P. VIELES	Chimie	MM. L. CECCHI	Physique
R. MAURY (I.P.A.)	Droit	H. ANDRILLAT	Astronomie
E. KAHANE	Chimie Biologique	M. SAVELLI	Physique
J.J. MOREAU	Mécanique rationnelle	M. MATTIAUER	Géologie
B. CHARLES	Mathématiques pures	L. EUZET	Zoologie
R. JOUTY	Physique	C. DELOUPY	Physique
P. DUMONTET	Physique	L. GRAMBAST	Botanique
R. LEGENDRE	Zoologie	BONNET	Botanique
I. ASSENMACHER	Physiologie animale	A. LAMATY	Chimie
B. PISTOULET	Physique	R. MARTY	Psychophysiologie
Ch. ROUMIEU	Analyse supérieure	Mme S. ROBIN	Physique
J. ROBIN	Physique	M. R. CORRIU (I.U.T.)	Chimie
A. POTIER	Chimie minérale	Mme N. PARIS	Physiologie végétale
R. LAFONT	Physique	M. J. ZARZYCHI	Sciences des matériaux (Physique du Solide)
R. JACQUIER	Chimie		

Professeurs sans chaire

MM. G. TOURNE	Chimie	MM. A. BASSOMPIERRE	Physique
J. REMY	Géologie	M. MAURIN	Chimie
P. DEMANGEON	Géologie	N. ROBY	Mathématiques
E. GROUBERT	Physique	R. GAUFRES	Chimie
Mme H. GUASTALLA	Biologie	J. PARIS	Zoologie
MM. R. LENEL	physico-chimique	G. BOUGNOT	Physique
F. PROUST	Biologie animale	M. ROUZEYRE	Physique
	Géologie	P. SABATIER	Mathématiques

Professeurs associés

MM. E. AKUTOWICZ	Mathématiques	MM. C. VAGO	Biologie animale
A. MICALI	Mathématiques	K. KHOLER	Biochimie

Maîtres de conférences

MM. P. MOLINO	Mathématiques	MM. L. LASSABATERE (I.U.T.)	Mesures physiques
L. THALER	Géologie	C. GOUT	Physique
J. LEGRAND	Physiologie animale	J.P. TRILLES (I.U.T.)	Biologie appliquée
R. JONARD	Botanique	G. LECOY (I.U.T.)	Génie électrique
G. LOUPIAS	Mathématiques	G. BORDURE (I.U.T.)	Génie électrique
Ch. CASTAING	Mathématiques	Y. PIETRASANTA (E.N.S.I.)	Chimie appliquée
R. CANO (I.U.T.)	Mesures physiques	M. AMANIEU Sc. et Techniques	Hydrologie et Mariculture
J.D. BAYLE	Physiologie animale	J. CROUZET Sc. et Techniques	Biochimie appliquée
J.P. FILLARD (I.U.T.)	Génie électrique - NIMES	A. COMMEYRAS	Chimie organique (E.E.A.)
Mme M. HAKIM	Mathématiques	H. MATHIEU Sc. et Techniques	Electronique mesures
MM. R. HAKIM	Mathématiques	P. LOUIS	Géophysique appliquée
J.M. MORETTI	Biochimie	Ch. DURANTE Sc. et Techniques	Automatique
G. MASCHERPA	Chimie	Mlle M. LEVY (I.U.T.)	Chimie
J. LAPSCHER	Mathématiques	MM. J. LAGARRIGUE (I.U.T.)	Biologie appliquée
F. GARCIA (I.U.T.)	Génie mécanique	Ch. DROGUE Sc. et Techniques	Géochimie appliquée à l'hydrologie
M. DENIZOT	Biologie végétale	P. GENESTE (E.N.S.I.)	Chimie physique appliquée
B. BRUN	Chimie physique	J. CHEFTEL Sc. et Techniques	Biochimie appliquée à l'alimentation
L. GIRAL	Chimie organique		
P. JOUANNA (I.U.T.)	Génie civil		

Maîtres de conférences associés

M. Y. CORMARY	Géologie	M. C. MAURIN	Biologie animale
---------------	----------	--------------	------------------

Chargés d'enseignement

MM. M. LEFRANC	Mathématiques	MM. B. FILLIATRE Sc. et Techniques	Informatique
Y. ESCOUFIER (I.U.T.)	Informatique	B. LEMAIRE Sc. et Techniques	Mathématiques appliquées (Informatique)
J.L. ROBERT (I.U.T.)	Génie électrique - NIMES	M. VALADIER	Mathématiques
M. AVEROUS (I.U.T.)	Génie électrique - NIMES		

Chargés de cours

MM. G. SAUMADE (I.U.T.)		MM. R. PEROCHON (I.U.T.)	Informatique
J. GUIN (I.A.P.)	Droit	REIX (I.U.T.)	



A mon mari

A mes filles

A tous les miens

A MON MAITRE

MONSIEUR LE PROFESSEUR MARIGNAN

Professeur à l'Université de Montpellier
Chevalier de l'Ordre National du Mérite

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BONToux

Professeur sans chaire à l'Université de Montpellier

A MONSIEUR LE PROFESSEUR SALVINIEN

Professeur à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc

A MONSIEUR LE PROFESSEUR JACQUIER

Professeur à l'Université des Sciences et Techniques du Languedoc

A MONSIEUR GUASTALLA

Directeur de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique
Département physico-chimie Colloïdale,
Centre de Recherches Biophysiques Biochimiques
MONTPELLIER

A MONSIEUR JOLY

Directeur de Recherches au Centre National de la Recherche Scientifique
Service Biophysique — Institut PASTEUR

AVANT-PROPOS

Ce travail, me donne l'occasion de remercier mon Directeur de Thèse Monsieur le Professeur MARIGNAN, ainsi que les maîtres qui composent ce Jury, car je leur dois à tous, à des titres divers, d'avoir écrit les pages suivantes.

Il m'est très agréable de pouvoir adresser mes sincères remerciements à mon Maître Monsieur le Professeur MARIGNAN, qui a bien voulu m'accueillir, parmi ses élèves, dans son laboratoire. J'ai toujours trouvé auprès de lui un accueil favorable, une aide avertie dans l'élaboration de ce travail qu'il a bien voulu diriger. Qu'il trouve ici l'expression de toute ma gratitude et de mon profond attachement.

Je voudrais assurer de ma très chaleureuse gratitude Monsieur le Professeur BONTOUX pour la formation quotidienne, et pour l'aide qu'il a bien voulu m'accorder dans l'élaboration de ce travail. Sa disponibilité à l'égard de ses collaborateurs, l'amicale bienveillance qu'il a toujours manifestée, ses encouragements et ses conseils ont été pour moi très précieux en de nombreuses circonstances.

Je voudrais exprimer à Monsieur le Professeur SALVINIEN ma reconnaissance pour l'honneur qu'il me fait en acceptant de présider ce Jury. J'ai eu le privilège de bénéficier de son enseignement durant mes premières années de faculté. L'élégance de son raisonnement, et son ouverture d'esprit resteront pour moi un modèle. Qu'il reçoive le témoignage de ma sincère admiration et de mon profond respect.

Ma reconnaissance s'adresse également à Monsieur le Professeur JACQUIER, à qui je dois ma formation de chercheur. J'aimerais qu'il retrouve dans ce travail l'empreinte de son enseignement.

Mes remerciements s'adressent aussi à Monsieur GUASTALLA, pour l'intérêt qu'il a bien voulu apporter à ce travail. Il m'a fait bénéficier de sa rigueur scientifique et de sa perspicacité dans la recherche ; qu'il trouve ici l'expression de ma reconnaissance.

Que Monsieur JOLY qui a accepté de me parrainer au Centre National de la Recherche Scientifique, et qui m'a toujours accordé l'audience la plus courtoise soit assuré de mon profond respect.

Mes remerciements vont également à Messieurs GENIN et REY qui ont contribué à la réalisation des clichés photographiques.

- A Monsieur DOUCET pour son concours technique particulièrement qualifié en microscopie électronique.

- A mes Camarades de laboratoire qui ont agrémenté mes années de recherches, de contacts amicaux dont je garderai un précieux souvenir.

Le Centre National de la Recherche Scientifique en m'acceptant comme chercheur m'a permis de réaliser matériellement cette thèse.

LA STABILISATION DES COLLOIDES HYDROPHOBES

Il est relativement difficile de donner une définition rigoureuse de la stabilité d'une solution colloïdale. La tendance à la sédimentation du soluté dans une solution même non colloïdale est un phénomène quasi universel comme l'a montré DUCLAUX (34). Dans la pratique, une solution colloïdale est dite stable si elle répond d'une certaine manière à des « tests de stabilité » (ou de floculation), définis généralement de façon empirique et sur lesquels nous serons amenés à discuter ultérieurement.

Pour l'instant, nous définirons comme stable une solution colloïdale dont les particules formant la phase dispersée, n'ont pas tendance à entrer en coalescence et restent de ce fait naturellement indépendantes durant un temps indéfini.

Les facteurs de stabilité à envisager sont de trois ordres :

- Les effets électrostatiques.
- L'attraction de VAN DER WAALS.
- Les effets des couches de polymères absorbés à la surface des éléments initialement dispersés.

Nous nous inspirerons pour discuter ces facteurs de la mise au point présentée récemment par LYKLEMA (68).

LES EFFETS ELECTROSTATIQUES

Ces effets peuvent être envisagés dans le cadre de la théorie développée par DEJARGUIN et LANDAU (30) puis par VERWEY et OVERBEEK (théorie D.L.V.O. (114)) qui est maintenant généralement acceptée lorsque, seule, entre en jeu, à côté des effets électrostatiques, l'attraction de VAN DER WAALS.

• Les particules hydrophobes des solutions colloïdales sont généralement chargées. Ces charges proviennent :

- de la dissociation de groupements superficiels.
- de l'adsorption d'ions naturellement présents dans le milieu dispersif.
- de l'adsorption d'agents tensio-actifs ioniques.
- de la substitution dite isomorphe qui se présente dans certains cas particuliers tels les argiles où quelques ions Si^{4+} , sont remplacés dans le réseau par des ions Al^{3+} .

Quelle que soit l'origine de ces charges de surface, elles doivent être compensées par une charge d'espace égale et de signe opposé.

La distribution de la charge dans l'espace est importante pour la stabilité du sol. Si elle est très diffuse, donc de grande dimension, les nuages compensateurs de deux particules se rapprochant sous l'effet du mouvement brownien s'interpénétreront, alors que les particules sont encore éloignées, et il y a répulsion électrostatique. Dans le cas contraire, l'approche est plus aisée, la répulsion n'interviendra que plus tard, et les forces attractives de VAN DER WAALS peuvent provoquer la floculation.

La théorie D.L.V.O. donne un traitement quantitatif de ce phénomène en se basant sur le modèle de couche double décrit par GOUY et CHAPMAN (40-23), VERWEY et OVERBEEK ayant utilisé ultérieurement aussi le modèle de GOUY et STERN (41).

• Il intervient obligatoirement une part importante d'hypothèses dans le développement de ces calculs.

Les ions sont considérés comme des charges ponctuelles ; leur distribution est déterminée uniquement par leur valence et non par leur volume, leur forme, et leur polarisabilité. La théorie ne distingue pas par exemple Na^+ et Li^+ , comme le souligne bien LYKLEMA en disant qu'il s'agit d'une théorie non spécifique. Le solvant est supposé homogène et continu. Il est caractérisé par sa constante diélectrique ϵ que l'on admet constante, même au sein de la couche double ; ce qui peut présenter certains inconvénients très près de la surface des particules.

• Ainsi lorsqu'on considère une surface plane, (ce cas peut s'appliquer aux particules dont le rayon est grand par rapport à l'épaisseur de la couche double), chargée d'ions de valence Z identique à la valence des ions compensateurs, l'équation du potentiel $\psi = \psi(x)$, à une distance x de la surface, peut s'obtenir d'après la relation :

$$(1) \quad xK = \ln \frac{\left[e^{\frac{Z e \psi}{2 kT}} + 1 \right] \left[e^{\frac{Z e \psi_0}{2 kT}} - 1 \right]}{\left[e^{\frac{Z e \psi}{2 kT}} - 1 \right] \left[e^{\frac{Z e \psi_0}{2 kT}} + 1 \right]}$$

ψ représente le potentiel de surface, k la constante de BOLTZMAN, T la température absolue et K un paramètre qui dans le cas envisagé s'écrit :

$$(2) \quad K = \left[\frac{8\pi e^2 \eta Z^2}{\epsilon kT} \right]^{1/2}$$

Si l'on se place comme on le fait souvent dans l'approximation dite des bas potentiels, qui rejoint l'approximation de DEBYE et HUCKEL, l'équation (1) devient :

$$(3) \quad \psi_{(x)} = \psi_0 e^{-xK}$$

ce qui met en évidence la décroissance exponentielle du potentiel avec la distance, et explicite la signification physique de K. En effet, si l'épaisseur de la couche double est définie comme la distance nécessaire pour que le potentiel soit réduit à la (1/e) d'une fraction de sa valeur à la surface particulaire, K est l'inverse de l'épaisseur de la double couche.

Pour l'exemple envisagé d'une surface plane, on obtient, comme l'indique LYKLEMA, pour des solutions aqueuses 10^{-1} M en sels monovalents, une épaisseur de couche de 10 Å. Pour 10^{-3} M, de 100 Å.

• Dans le cas de particules sphériques, en admettant toujours l'approximation des bas potentiels, on obtient :

$$(4) \quad \psi_{(x)} = \psi_0 \frac{a}{2} e^{-K(a-r)}$$

ψ étant le potentiel en un point situé à une distance r du centre d'une particule de rayon a. ψ_0 est toujours le potentiel de surface.

• Cette théorie nous permet donc, malgré ses limites, d'évaluer un ordre de grandeur des distances d'influence électrostatique autour des particules colloïdales. Elle permet également l'évaluation de l'énergie de répulsion mise en jeu lorsque deux particules se rapprochent.

Ainsi l'énergie totale de répulsion E_R entre deux sphères identiques de rayon a et de potentiel de surface ψ_0 , dans l'approximation des bas potentiels est donnée par la relation :

$$(5) \quad E_R = \frac{\epsilon a \psi_0^2}{2} \ln(1 + e^{-KH})$$

H étant la plus courte distance séparant les deux sphères.

L'ATTRACTION DE VAN DER WAALS

• DE BOER et HAMAKER (12-48) ont montré que l'énergie mise en jeu par les forces d'attraction de LONDON-VAN DER WAALS leur permettait, dans certaines conditions, lorsque l'on avait affaire à des associations relativement importantes d'atomes (c'est le cas des particules colloïdales), d'être suffisante pour entrer en compétition avec les forces électrostatiques de répulsion.

Leur calcul est basé sur deux hypothèses :

- les forces de LONDON sont additives.
- les distances entre les surfaces considérées sont grandes par rapport aux distances intermoléculaires au sein des particules.

• Ainsi entre deux surfaces planes, d'une substance 1 dans un milieu 2, l'énergie attractive par unité d'aire, peut être obtenue avec une bonne approximation par la relation :

$$(6) \quad E_A = - \frac{A_1(2)}{12 \pi d^2}$$

Où $A_1(2)$ est une constante dite constante d'HAMAKER, fonction de la densité des atomes constituant les éléments considérés, ainsi que des coefficients des équations classiques de LONDON, rendant compte des attractions interatomiques dans les milieux 1 et 2, d étant la distance séparant les deux surfaces.

• Si on envisage deux particules sphériques identiques, d'une substance 1, baignant dans un milieu 2, l'énergie totale d'attraction devient :

$$(7) \quad E_A = - \frac{A_1(2)}{6} \left[\frac{2}{s^2 - 4} + \frac{2}{s^2} \ln \frac{s^2 - 4}{s^2} \right]$$

avec $s = R/a$, R étant la distance entre les centres des particules et a , leur rayon.

LYKLEMA fait remarquer que l'effet de retard dû au caractère électromagnétique des forces de dispersion est ici négligé. Lorsque l'on considère des éléments relativement éloignés, un facteur de correction doit être introduit pour tenir compte du temps nécessaire à la propagation de ces forces de dispersion. Ce facteur est de 60 pour cent pour $d : 1000 \text{ \AA}$ dans l'eau, dans le cas des surfaces planes en regard. Il faut également souligner les difficultés que l'on peut rencontrer dans la pratique pour évaluer les constantes d'HAMAKER.

LES EFFETS DES COUCHES DE POLYMERES ADSORBES A LA SURFACE DES ELEMENTS DISPERSES

La théorie D.L.V.O. ne tient compte que des deux facteurs que nous venons d'envisager. Dans la littérature, nous trouvons de nombreuses variations de la somme $E_R + E_A$, pour différents systèmes en fonction des distances interparticulaires ; ces représentations mettent en évidence la distance critique de floculation (fig. 1). Cependant la théorie D.L.V.O. ne mentionne pas les facteurs de stabilisation autres que les effets électrostatiques et ceux des forces de LONDON-VAN DER WAALS. En particulier, ne sont pas pris en compte les effets dus à l'adsorption des polymères à la surface des micelles lyophobes. Il est pourtant connu depuis longtemps que la présence de polymères peut avoir des conséquences importantes sur un sol ; on peut observer :

- soit une protection. Le sol devient résistant à la présence d'un électrolyte à forte concentration.
- soit une sensibilisation. C'est-à-dire une sensibilité accrue à une augmentation de la force ionique.
- soit une véritable coagulation du sol par simple action du polymère.

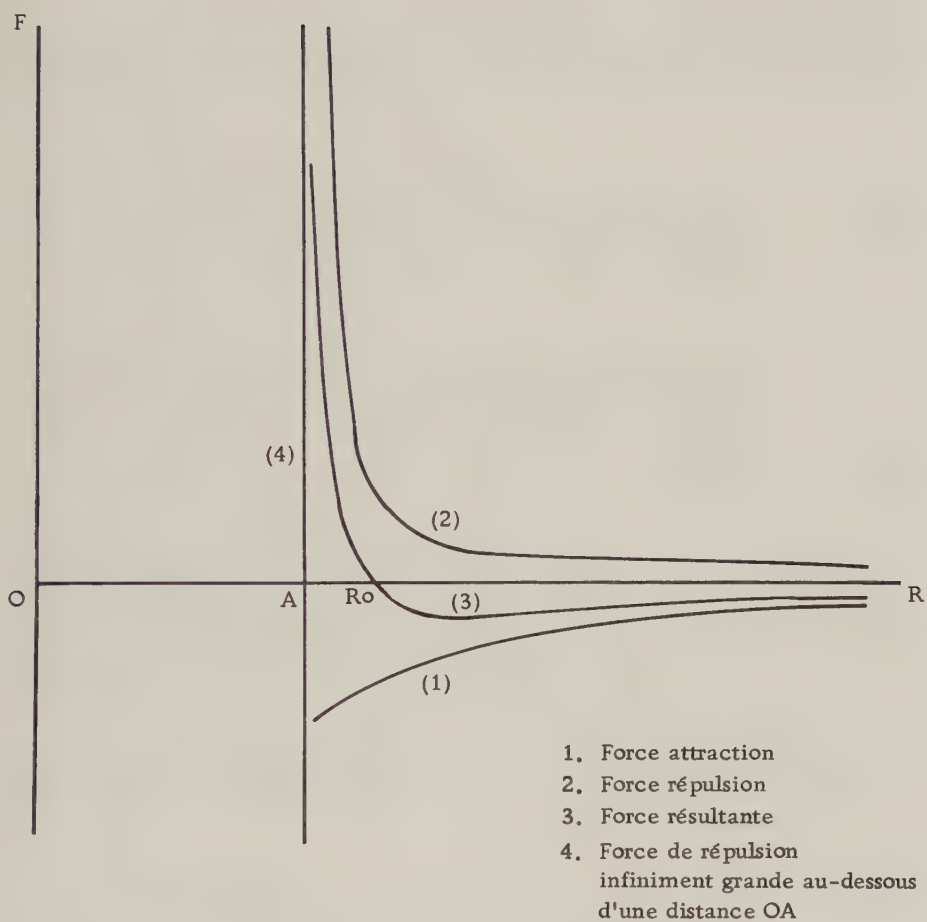


Fig. 1 - Force d'attraction et de répulsion entre 2 molécules

Il n'est pas possible actuellement de donner une explication quantitative rigoureuse de ces phénomènes, mais qualitativement on peut prévoir certains effets dus à l'adsorption d'une couche macromoléculaire sur les particules hydrophobes.

- Le polymère, s'il est chargé, modifie la charge particulaire, donc agit sur la répulsion électrostatique.
- Le polymère ayant généralement une constante d'HAMAKER différente de celle de la particule vis à vis du milieu, entraîne un changement de l'attraction due aux forces de LONDON-VAN DER WAALS.
- Enfin, la présence du polymère a des effets stériques. Les nuages macromoléculaires autour des particules provoquent généralement l'apparition d'une répulsion stérique. A moins qu'au contraire des pontages interparticulaires favorisent l'agrégation des éléments dispersés.

C'est ce mécanisme des effets stériques qui est caractéristique surtout des polymères et pour le préciser, il est nécessaire de connaître la façon dont est fixée la macromolécule à la surface de la particule. Or, il est pratiquement exclu qu'une macromolécule adhère parfaitement par toute la longueur de sa chaîne sur la surface ; elle est fixée par un certain nombre de sites terminaux ou latéraux, d'où la présence de boucles et de chaînes plus ou moins « pendantes » très difficiles à représenter rigoureusement puisqu'interviennent le nombre et la nature des groupes, la nature du solvant et de la particule, la flexibilité des chaînes, la température, etc...

• Il faut considérer enfin, et c'est là un point important, les possibilités de désorption des macromolécules. Le degré de réversibilité de l'équilibre adsorption-désorption est déterminant dans le comportement de la couche de polymère, lors d'un rapprochement interparticulaire.

Ce degré serait, semble-t-il, fonction de la masse moléculaire ; les substances de bas poids moléculaires se désorberaient plus rapidement que celles de hauts poids moléculaires.

Pour ces dernières, il est probable qu'un nombre élevé de sites adhère à la surface particulière et une désorption complète est difficile, ce qui bien entendu ne veut pas dire que le nombre de sites fixés ne se modifie pas lors d'une collision.

La masse moléculaire intervient également sur le temps nécessaire pour atteindre l'équilibre d'adsorption, les petites masses moléculaires atteignent plus rapidement cet équilibre que les masses plus élevées.

On conçoit finalement que l'approche du problème des effets stériques des polymères sur les sols colloïdaux lyophobes, soit très difficile sur le plan thermodynamique et que l'on ne trouve aucune théorie quantitative pouvant prétendre à une application générale. Il faut citer toutefois, comme le fait LYKLEMA, trois recherches effectuées pour rendre compte quantitativement, à partir de modèles simplifiés, de cette répulsion stérique qui est due dans tous les cas à la diminution de l'entropie des nuages macromoléculaires, lors de leur interpénétration au cours d'une rencontre interparticulaire.

Les travaux sont ceux de MACKOR et VAN DER WAALS, ceux de CLAYFIELD et LUMB et ceux de MEIER.

— 1) MACKOR et VAN DER WAALS (69) se réfèrent essentiellement à des systèmes mettant en jeu des macromolécules de poids moléculaires relativement bas, admettant que les molécules peuvent se désorber au cours des collisions.

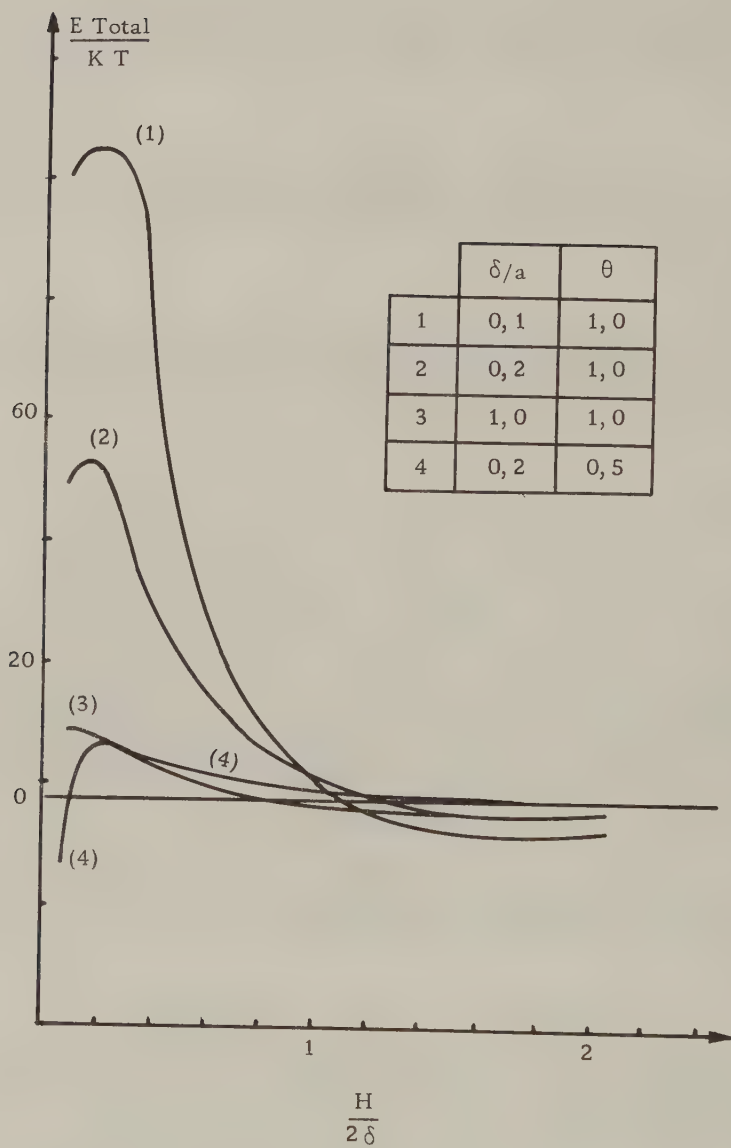


Fig. 2 - Interaction totale des forces de répulsion et d'attraction entre un plan et une sphère de rayon a

Ils supposent, comme le feront aussi CLAYFIELD, LUMB (24) et MEIER (72) que les molécules sont fixées par une extrémité. La répartition stérique des chaînes correspond à des isothermes type LANGMUIR. L'énergie de répulsion stérique entre deux particules E_{RS} , ainsi calculée, met en évidence l'influence de l'arrangement macromoléculaire dans la couche protectrice, de l'énergie d'adsorption des molécules, ainsi que de la distance. Il apparaît de ce fait pour ce dernier point, que si les particules sont à une distance supérieure à deux fois la longueur des chaînes, il n'y a pas de répulsion alors que E_{RS} croît fortement en deça de cette limite.

Il apparaît également dans les exemples donnés que E_{RS} annule facilement E_A , énergie d'attraction due aux forces de LONDON-VAN DER WAALS.

Enfin on note dans cette théorie que la densité du nuage macromoléculaire passe par un optimum pour les effets de stabilisation, un nuage trop dense pouvant ne pas convenir à une bonne stabilisation stérique.

— 2) La théorie de CLAYFIELD et LUMB n'admet par contre aucune désorption macromoléculaire au cours des collisions. Les résultats obtenus sont donc différents, en particulier l'énergie d'adsorption n'intervient pas dans l'énergie E_{RS} puisqu'il n'y a pas de désorption possible.

La figure 2 donne l'énergie d'interaction totale $E_{RS} + E_A$ dans le cas du rapprochement d'un plan et d'une sphère de rayon a , non chargés, recouverts par une couche macromoléculaire d'épaisseur (degré de polymérisation du polymère égale 30) en fonction de la grandeur $H/2\delta$

H étant la distance entre les surfaces du plan et de la sphère, θ représente la surface recouverte, en unité arbitraire ($\theta = 1$ si une chaîne occupe une aire moyenne égale à δ^2).

E_A est calculée à partir d'une constante d'HAMAKER égale à 10^{-12} erg, valeur que l'on peut considérer comme nettement plus élevée que les valeurs usuellement rencontrées.

Cette figure 2 montre qu'une stabilisation convenable s'obtient à condition d'avoir des valeurs favorables du rapport δ/a . Elle montre également que dans le cas envisagé, il n'y a pratiquement aucune répulsion pour $H > 2\delta$, mais que par contre E_{RS} augmente de façon très brutale si H devient inférieur à 2δ . Elle met enfin en évidence certaines conséquences remarquables de la théorie de CLAYFIELD et LUMB.

En particulier

— le maximum de l'énergie de répulsion E croît avec le rayon de la particule a , pour une épaisseur donnée, bien que l'énergie d'attraction de LONDON-VAN DER WAALS croisse également avec a .

La théorie prévoit donc que des particules trop petites peuvent ne pas être stabilisées par une macromolécule de longueur déterminée, et que dans le cas des grosses particules, la répulsion stérique doit croître avec la masse moléculaire.

— 3) La théorie de MEIER est difficilement comparable aux deux précédentes, parce qu'elle n'envisage que les répulsions et attractions possibles entre deux surfaces planes. L'interpénétration des nuages macromoléculaires est alors très différente de ce qu'elle peut être lorsque l'on considère deux sphères ou une sphère et un plan.

On peut remarquer simplement qu'elle souligne le rôle du solvant, en faisant intervenir les charges d'interactions des différents éléments du système.

Si on a affaire à des polymères peu solubles, ils auront tendance à s'associer lors de la rencontre de deux particules avec leur enrobage et l'on obtiendra plutôt une floculation qu'une stabilisation. Par contre les meilleurs protecteurs seront les macromolécules solubles possédant des sites actifs susceptibles de se lier à la surface particulaire.

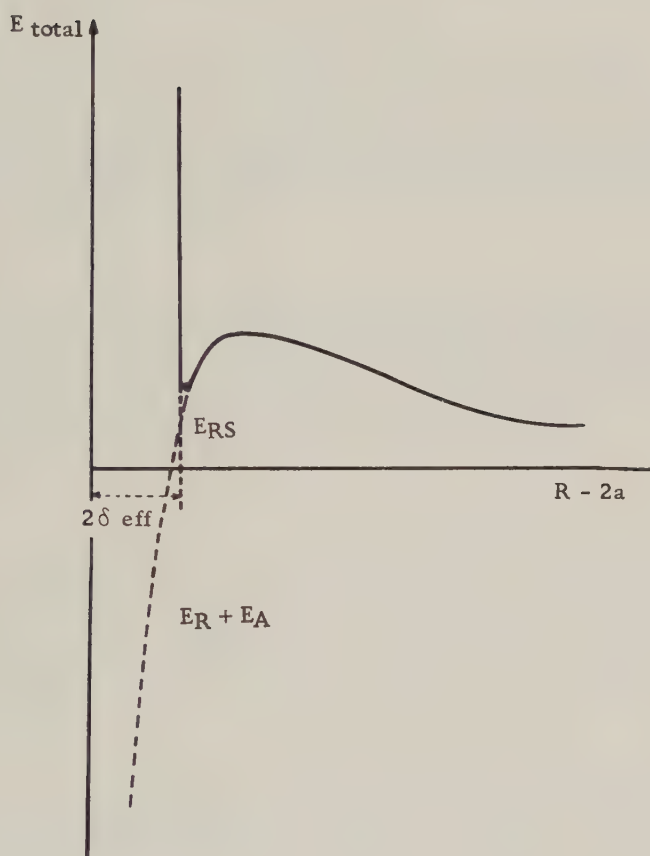


Fig. 3 - Action combinée de E_R , E_A et E_{RS}

Ces polymères ont de plus l'avantage, comme le souligne LYKLEMA, d'avoir des constantes d'HAMAKER voisines de celles du solvant ce qui simplifie les interprétations théoriques.

La figure 3 montre par exemple un cas où l'influence électrostatique se développe loin de la particule, très au delà de la distance δ efficace, correspondante au nuage macromoléculaire. Il apparaît un maximum intermédiaire qui explique que, dans un tel système, un équilibre s'établit entre la floculation et la redispersion.

Par contre, dans les sols aqueux, en présence d'une force ionique non négligeable, la distance d'action de l'effet électrostatique est courte, comme les exemples cités nous l'ont montré ; elle est certainement inférieure à δ efficace et les effets stériques sont pratiquement seuls à intervenir.

BUT DU TRAVAIL

Nous venons de souligner que les théories émises pour rendre compte des effets de stabilisation des colloïdes minéraux par les polymères ne peuvent prétendre à une portée générale.

La diversité des problèmes posés par chaque système explique cette difficulté, mais il apparaît aussi que pour une exploitation rationnelle, les données expérimentales de la littérature sont trop souvent obtenues dans des conditions qui ne sont pas suffisamment comparables et ne peuvent donc servir de base qu'à l'établissement de règles d'application restreinte.

Le but essentiel de ce travail est d'essayer d'apporter dans le cas des colloïdes minéraux, stabilisés par des macromolécules en milieu aqueux, des résultats et des méthodes permettant des comparaisons entre des couples différents de particules minérales et de polymères ; cela afin de permettre, pour chaque système, une distinction entre la part des éléments spécifiques et des éléments généraux régissant la stabilisation.

• Dans le présent travail, nous avons tout d'abord effectué une étude comparée des différents stabilisants (gélatine, dextran, P.V.P.) choisis comme étant représentatifs d'une certaine classe de macromolécule.

- La gélatine est une protéine, polyélectrolyte ampholyte très souvent utilisée comme protecteur.
- Le dextran est un polysaccharide non chargé.

La polyvinyl-pyrrolidone est un polymère de synthèse également non chargé.

- Nous avons étudié l'influence de certains facteurs sur la stabilisation, tels que la masse moléculaire, la concentration et les dimensions particulières. Afin de déterminer s'il y avait des effets spécifiques, notre étude a porté sur deux colloïdes de nature différente : un colloïde d'or et du bromure d'argent colloïdal. Pour mener à bien cette étude comparative nous avons été conduits à mettre au point un test de stabilité.

- Enfin, dans une dernière partie de ce travail, nous avons essayé de mettre en évidence et évaluer la couche protectrice.

SYSTEMES ETUDIES

CHAPITRE I

CARACTERISATION DES STABILISANTS

LA GELATINE

• Les gélatines sont des substances qui n'existent pas dans la nature. Ce sont des protéines dégradées obtenues par hydrolyse partielle du Collagène contenu dans la peau, le tissu conjonctif et les os des animaux. ROUSSELOT (94) indique que cette hydrolyse partielle peut être réalisée soit en milieu acide, soit en milieu basique et conduit de ce fait à des gélatines possédant des propriétés différentes. Cependant, toutes les gélatines ont la structure primaire du Collagène, c'est-à-dire qu'elles sont constituées par une longue chaîne d'amino-acides reliés entre eux par des liaisons peptidiques. La liste de ces différents acides aminés est donnée par NEUMAN (79).

— A côté des groupements acides aminés, les recherches ont porté sur la présence d'hydrates de carbone (85) dans les solutions de gélatine qui interviennent dans la cohésion du collagène (20 — 81 — 91) ; lors du chaulage leur attaque constitue une étape éventuelle de la fabrication de la gélatine.

— Les groupements, fonctions acides et basiques des amino-acides de la chaîne, confèrent à la gélatine des propriétés caractéristiques de polyélectrolytes propres à la gélatine considérée.

— Les sites chargés électriquement gouvernent en somme les interactions entre les molécules de gélatine d'une part et entre les molécules de gélatine et le solvant d'autre part. Ils affectent la viscosité de la solution ainsi que les autres propriétés hydro-dynamiques. On a évalué (25 — 54) à 90N le nombre de protons que l'on peut fixer sur 10^5 grammes de gélatine (N étant le nombre d'AVOGADRO). Une des propriétés intéressantes de la gélatine due à son aspect polyampholyte est son pHi, qui est atteint lorsque la molécule possède un nombre égal de groupes acides et basiques dissociés. Il faut noter que ce pHi se situe entre 4 et 9 unités pH (2), cette valeur du pHi dépend des échantillons et de leur mode d'obtention. Le pHi des échantillons gélatine utilisés dans les expériences ultérieures est de 4,8. Pour cette valeur du pHi les propriétés de la gélatine sont maximum comme la turbidité (58) ou minimum ; en particulier la viscosité de la solution de gélatine passe par un minimum au pHi.

— La température à laquelle les expériences sont effectuées est un facteur déterminant dans le comportement rhéologique de la gélatine. WARD (121) conclut qu'il est nécessaire d'opérer au-dessus de 35°C afin que les molécules soient séparées en solution, c'est-à-dire que la dispersion de la gélatine soit complète.

• Il est bien certain que les différents procédés d'obtention des gélatines conduisent à la destruction de la structure secondaire du collagène, imputable aux liaisons hydrogènes. Parfois même, les structures primaires et tertiaires sont endommagées. De ce fait, la gélatine est une des rares protéines à présenter une absence notable d'ordre interne. En effet, la structure secondaire est transformée en un réseau asymétrique d'unités de tropocollagène soluble dans l'eau, et, dont les molécules sont indépendantes et possèdent un très faible degré d'organisation interne (111). Ainsi, en solution aqueuse et à une température assez élevée, les chaînes peptidiques prennent une configuration « random Coil » (pelote statistique). On trouve donc une analogie avec les hauts polymères synthétiques linéaires. Cette analogie est confirmée par l'étude en diffusion lumineuse effectuée par BOEDTKER et DOTY (10). Cette configuration « random Coil » prend véritablement son sens lorsque la gélatine est à son pHi.

A ce moment-là seulement, les divers segments de la chaîne peuvent être situés les uns par rapport aux autres sans direction préférentielle. En effet lorsque la gélatine est fortement chargée, positivement ou négativement, les charges provoquent un effet de répulsion le long de la chaîne et la molécule occupe la plus grande place possible en longueur.

La polydispersité des échantillons de gélatine a été démontrée par POURADIER et VENET (90 – 91). Le fractionnement de la gélatine peut être effectué par coacervation (54). De plus, la distribution des masses moléculaires en solution saline à 40°C est fixée par le mode d'obtention ainsi que par l'origine de l'échantillon considéré. Les caractéristiques du tropocollagène et de la gélatine issue de la dénaturation de ce tropocollagène ont été déterminées par pression osmotique et diffusion lumineuse à 40°C par BOEDTKER et DOTY (11). Ces auteurs concluent à la dispersité moléculaire des échantillons et au fait que le même modèle configurationnel ne peut être utilisé pour toutes les gélatines. L'absence de cystine, ainsi que les résultats des dosages des résidus N terminaux effectués par COURTS (26), confirment cette structure en chaîne unique linéaire. Toutefois, les résultats de sédimentation, viscosité et diffusion lumineuse, obtenus dans le cas de gélatines de hauts poids moléculaires pourraient avoir une explication logique, si l'on considérait qu'il s'agit de multichaînes, et non plus d'une chaîne unique, et que les liaisons entre les chaînes sont covalentes [COURTS – STAINSBY (27)].

• Il est bien certain que dans la transition collagène—gélatine il y a perte de la configuration ordonnée du collagène. Or l'unité macromoléculaire du collagène est constituée de trois chaînes hélicoïdales enroulées les unes autour des autres, et autour de l'axe commun de la macromolécule. Trois arrangements internes de ces trois hélices peuvent intervenir lors de la dénaturation du collagène.

— POURADIER (86) décrit les trois réactions qui peuvent avoir lieu.

A savoir :

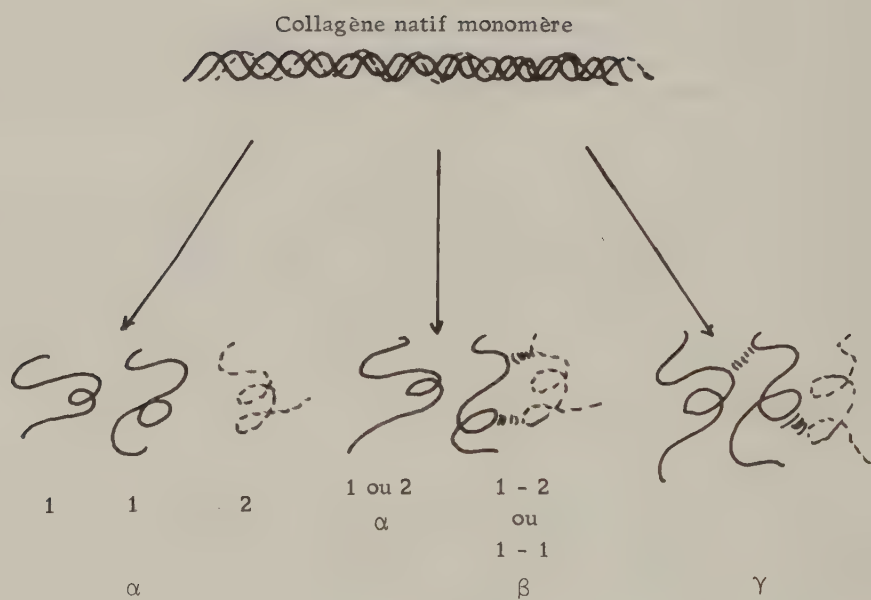


Fig. 4 - Transition collagène - gélatine

- 1 — une désorganisation irréversible de la structure hélicoïdale.
- 2 — une rupture irréversible des liaisons existant dans les chaînes polypeptidiques.
- 3 — une hydrolyse irréversible des liaisons peptiques entraînant une rupture des chaînes polypeptidiques.

— Si la deuxième réaction est prédominante, la gélatine ainsi obtenue sera constituée de molécules formées de chaînes uniques. Lorsque les réactions 2 et 3 interviennent en même temps, il y aura apparition de multichaînes, dont le nombre moyen varie avec la vitesse de réaction. VEIS (111) a schématisé la transition du collagène en gélatine de la façon suivante :
(voir figure 4).

• Les trois composantes (α β γ) des gélatines se différencient par leurs coefficients de sédimentation (80). La composante γ peut redonner dans certaines conditions la structure du collagène (112 — 113). Cette hypothèse est vérifiée et confirmée par RICE (93) et par ALTGELT et ses collaborateurs (1).

• La présence des carbohydrates peut conférer à la gélatine un volume moléculaire plus important. Un phénomène identique intervient lorsque l'on étudie la chromatographie sur gel poreux des glycoprotéines et des protéines correspondantes. Cependant, le pourcentage des carbohydrates dans la gélatine semble trop faible pour provoquer un tel effet.

LE DEXTRAN

• Habituellement, le terme dextran est utilisé pour désigner des polysaccharides de hauts poids moléculaires, obtenus par l'action des bactéries, telle que le « *Leuconostoc mesenteroides* N R R L B 512 », sur un substrat de sucre de betterave et de phosphate (42).

— Le dextran est donc synthétisé par des micro-organismes, par action enzymatique, à partir du saccharose (44). Certaines fractions de masses moléculaires plus faibles, sont préparées par hydrolyse acide du dextran natif, à haute température. Les fractions ayant une masse moléculaire comprise entre 50 000 et 100 000 présentent un intérêt clinique pratique. Elles sont utilisées comme succédané du plasma sanguin.

• Le dextran est donc un polymère anhydroglucosidique, de charge nulle, se présentant sous la forme d'une poudre blanche dont la structure a été établie par voie chimique, hydrolyse partielle, méthylation, oxydation périodique et enzymatique. Le dextran est constitué d'unités de glycopyranose liées entre elles par des liaisons α -D 1 $\rightarrow$ 6. Cependant, un petit nombre de liaisons 1 $\rightarrow$ 3 et 1 $\rightarrow$ 4 apparaissent de temps à autre, conduisant à des ramifications.

— Le nombre de liaisons qui ne sont pas 1 $\rightarrow$ 6 peut varier de 5 pour 100 à 20 pour 100 du total des liaisons glucosidiques. La longueur moyenne des branches est de 5 à 50 unités de glucose. Il est bien certain que les ramifications doivent introduire des variations dans les propriétés du polymère, même si celui-ci est obtenu à partir du même micro-organisme (122). L'existence de ces ramifications et leur influence sur certaines propriétés telle que la viscosité, la vitesse de sédimentation ont été étudiées par SENTI et coll. (97). Ces mesures ainsi que les déterminations par diffusion lumineuse indiquent que le nombre de ramifications croît avec la masse moléculaire [SEDLACEK (96) et LESTER et coll. (65)].

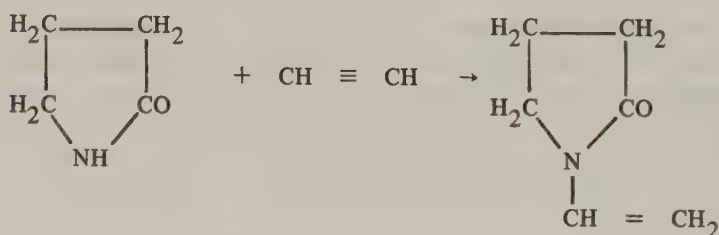
Les amas moléculaires deviennent plus compacts. Le volume apparent de la molécule solvatée par gramme de masse non solvatée est inférieur dans le cas du dextran ramifié, par rapport à celui du dextran linéaire ayant la même masse moléculaire [GREEN (43)]. BOVEY (19) et BENOIT (7) déduisent de leurs expériences que les dextrans de hauts poids moléculaires en solution, ont une forme sphérique qui doit être due à leur haut degré de ramification. OGTON et WOODS cités par GROTE (45) pensent que le dextran en solution est fortement hydraté et que sa forme dans ce cas-là est comparable à une sphère hydrodynamique. Cependant, le fait qu'il y ait de nombreuses ramifications le long de la chaîne glucosidique ne permet pas d'expliquer le comportement du polymère en solution, et surtout sa différence de comportement en comparaison avec le dextran linéaire correspondant. Il semble vraisemblable que de temps en temps ces ramifications courtes sont remplacées par une ramification formée d'un grand nombre d'unités de glucose, ce qui contribue à donner au dextran une densité supérieure au polymère en chaîne correspondant [JONES et coll. (57)]. GIANTURCO et coll. (38) notent une zone de cristallinité décelable aux rayons X, seulement dans le cas de polysaccharides qui ne présentent pas de ramification, ou bien, lors de la présence de petites ramifications régulières (82). La tendance à la cristallisation diminue lorsque le degré de ramification augmente (104). Le dextran fourni par la firme Pharmacia Uppsala contient 95 % de polymère en chaîne et seulement 5 % de liaison 1→3 et 1→4. [ANTONINI et coll. (6)]. Il ne présente cependant qu'une très faible tendance à cristalliser [MARSDEN (70)] , ce qui pourrait être expliqué par le fait que bien que les ramifications soient peu nombreuses, elles sont très irrégulières et empêchent la cristallisation.

LA POLYVINYL PYRROLIDONE

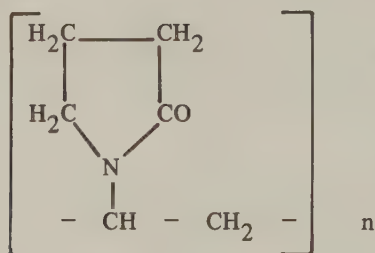
• La polyvinyl-pyrrolidone ou P.V.P. est une molécule de synthèse préparée pour la première fois en Allemagne en 1943 par HECHT et WESSE (51). Elle est commercialisée dans ce pays sous le nom de Kollidon, et sous celui de Subtosan en France.

• La synthèse de ce produit est effectuée en deux étapes :

— une première étape concernant la condensation de la pyrrolidone avec l'acétylène, conduit à la formation de la Vinyl-pyrrolidone selon le schéma suivant :



— la deuxième étape consiste en la polymérisation de cette vinyl pyrrolidone dans des conditions analogues à celles utilisées dans la préparation des résines vinyliques (92). On obtient le composé ci-dessous :



- C'est une fine poudre blanche amorphe, inodore et insipide, légèrement hygroscopique. Le polymère soluble dans l'eau présente quelques-unes des propriétés des protéines linéaires vis-à-vis de la solubilité, du pouvoir d'adsorption et de protection. Ce polymère présente un pouvoir complexant particulièrement intense vis-à-vis d'un grand nombre d'éléments et de composés chimiques.

Ces caractéristiques en font un support précieux dans certaines préparations pharmaceutiques et sont à l'origine de l'utilisation de ces solutions comme plasma artificiel.

- En tant que polymère vinylique, la P.V.P. a très vraisemblablement, en solution, une configuration en chaîne que l'on peut rapprocher de celle de l'alcool polyvinylique en solution aqueuse [JIRGENSONS (56)].

- On mentionne par ailleurs, la réaction de ce polymère avec l'iode, citée fréquemment comme critère analytique, pouvant servir à l'identification de ce composé macromoléculaire [LEFAUX (64)]. La teinte des solutions aqueuses iodo-iodorées (réactif de Lugol) est modifiée lorsqu'on introduit de la Polyvinyl-pyrrolidone. Ce phénomène résulte de la formation d'un complexe entre le polymère et les ions minéraux présents dans la solution.

NEEL et SEBILLE (78) ont montré que les macromolécules jouaient, par leur fonction amide tertiaire, un rôle multi accepteur. Dans les milieux concentrés, en iodure, la particule fixée est I_3^- .

CHAPITRE II

MISE EN EVIDENCE ET DOSAGE DES STABILISANTS

Dans le chapitre précédent, nous avons décrit trois composés macromoléculaires, la gélatine, le dextran et la polyvinyl pyrrolidone, qui seront utilisés dans la suite de ce travail comme colloïdes protecteurs.

Dans toute étude préliminaire sur la stabilisation, il est nécessaire de bien définir les composés qui entrent en jeu. Pour cela, nous allons dans ce chapitre exposer les méthodes de mise en évidence des composés macromoléculaires étudiés, ainsi que certaines techniques de dosages, utilisées dans les expériences ultérieures.

MISE EN EVIDENCE DES COMPOSES MACROMOLECULAIRES

I. — GELATINE

• La gélatine est le colloïde protecteur le plus couramment employé dans les expériences de stabilisation. C'est une protéine qu'il est donc certainement possible de mettre en évidence par spectrographie ultraviolette.

Cependant, alors que les protéines normales présentent un maximum d'absorption dans une zone de longueur d'onde se situant entre 260 et 280 nm, la gélatine ne présente aucune absorption spécifique dans cette zone là.

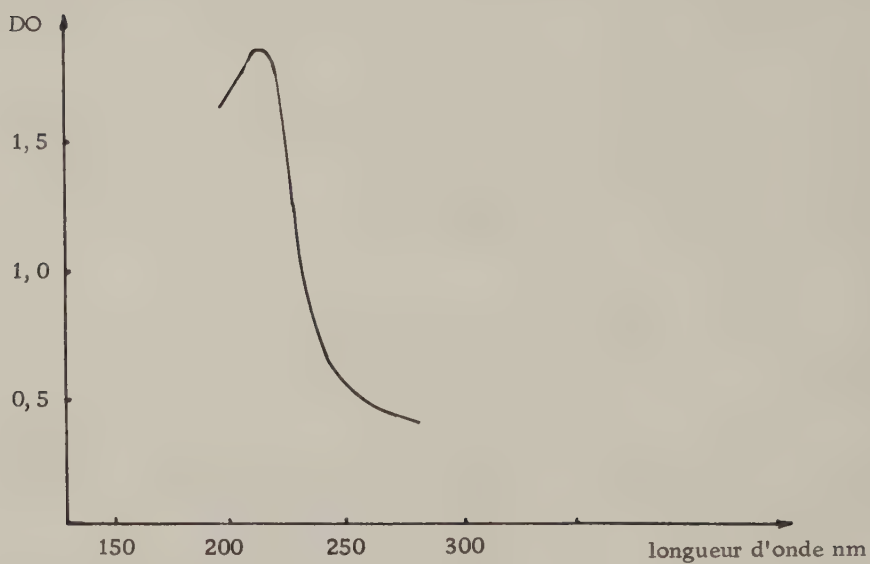


Fig. 5 - Spectrographie ultraviolette d'un échantillon de gélatine à 0,4 %

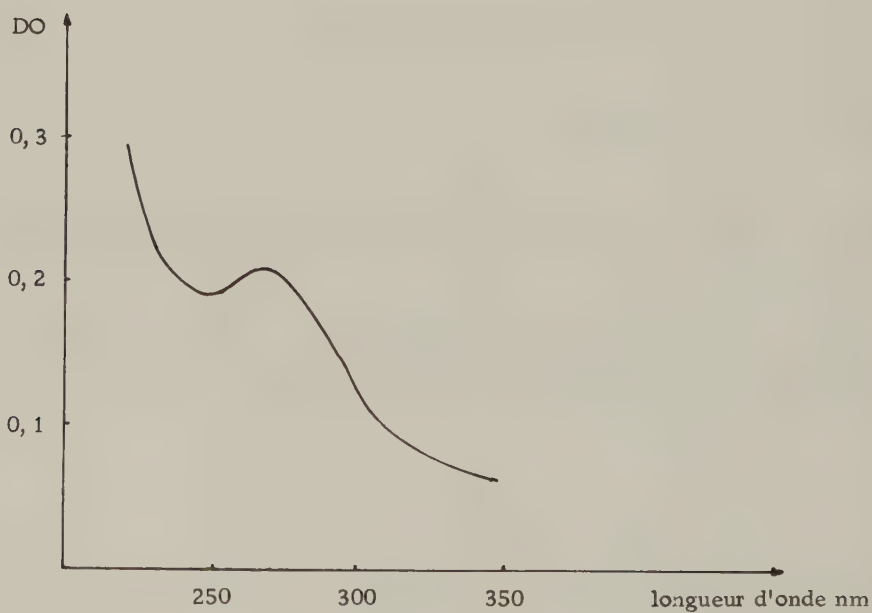


Fig. 6 - Spectrographie ultraviolette d'un échantillon de Dextran à 6 %

L'absorption des protéines à cette longueur d'onde est due à la présence, sur leurs chaînes latérales, d'acides aminés aromatiques, tels que la tyrosine et le tryptophane, ainsi que la phénylalanine, bien que cette dernière ait un effet moins important que les précédents (99). Or la gélatine est caractérisée par une absence de tryptophane d'une part, et d'autre part, sa teneur en tyrosine est très faible (moins de trois résidus pour mille). Ceci permet d'expliquer l'absence d'absorption entre 260 et 280 nm. Sur le **graphique 5** nous avons porté la densité optique d'une solution de gélatine à 0,4 pour 100, en fonction de la longueur d'onde en nm. Un maximum d'absorption apparaît à des longueurs d'onde très faibles vers 235 nm. Il est bien certain que cette zone de longueur d'onde n'est pas spécifique de la gélatine. Des composés tels que le thiophénol, le thiophène, l'acide abietique ainsi que la 2 - 4 - 6 triméthyl aniline absorbent dans cette région du spectre ultra violet.

- Cependant la spectrographie ultraviolette pourra être utilisée dans la suite de nos expériences comme technique de mise en évidence de la gélatine dans certains échantillons, car les seuls composés mis en jeu seront l'eau et la gélatine. Nous pourrions différencier les fractions contenant l'eau pure de celles contenant en plus de la gélatine.

II. — DEXTRAN

La mise en évidence du dextran pourra s'effectuer dans certaines conditions, par spectrographie ultraviolette et plus couramment par chromatographie de partage en couche mince lors de l'emploi de dextran radioactif.

1) Spectrographie ultraviolette

- La mise en évidence du dextran par spectrographie ultraviolette est plus problématique que celle de la gélatine. Sur le **graphique 6** nous avons noté les densités optiques d'une solution de dextran à 6 pour 100 en fonction de la longueur d'onde en nm.

Un léger épaulement peut être observé à 263 nm lorsque les mesures sont effectuées en solution concentrées en dextran. Pour les teneurs inférieures à 6 pour 100 en dextran, nous ne notons aucune absorption spécifique. Il ressort de ces observations que la mise en évidence du dextran par cette méthode présente un intérêt limité étant donné que les mesures sont effectuées généralement sur des concentrations bien plus faibles.

2) *Chromatographie de partage en couche mince*

La chromatographie de partage en couche mince est une méthode de mise en évidence très rapide qui permet le plus souvent de bonnes séparations. Nous avons pu utiliser cette méthode uniquement lorsque nous avons travaillé avec des macromolécules radioactives. La révélation des chromatogrammes effectuée par autoradiographie ne présentait aucune difficulté.

Nous avons utilisé des feuilles chromatographiques kodak type K 511 V, qui sont constituées par des feuilles souples en polyéthylène inerte, recouvertes, selon un procédé industriel, par une couche organique inerte, non absorbante, préparée à l'aide d'une résine synthétique de la classe des Polycarbonates. Cette couche organique est déposée sur le support sous forme d'un micro précipité. Le caractère hydrophile de cette couche peut être augmenté par imprégnation préalable à l'aide d'un tampon phosphaté.

Le protocole expérimental concernant la marche à suivre pour effectuer une chromatographie de partage en couche mince est le suivant :

a) *Technique de la chromatographie en couche mince*

Les feuilles chromatographiques sont imprégnées d'un tampon phosphate (mélange PO_4H_2Na et PO_4HNa_2) 0,2 M. dont le pH peut être ajusté selon les expériences. Dans nos expériences le pH de la solution tampon est de 6,8. L'imprégnation dure une dizaine de secondes et les feuilles chromatographiques sont rapidement séchées entre deux feuilles de papier filtre ; on dépose alors à l'aide d'une micropipette des microgouttes de dextran de concentration variable.

Après plusieurs essais, nous avons retenu le solvant suivant : propanol normal, acétate d'éthyle, eau (100 – 20 – 10). Les chromatogrammes sont ensuite déposés dans des cuves kodak pour chromatographie à saturation immédiate. Le temps de migration est de une heure : les chromatogrammes sont alors séchés à l'air, puis révélés par autoradiographie.

b) Technique autoradiographique

Les chromatogrammes ont été révélés, du point de vue radiochimique, par autoradiographie. Cette technique connue depuis fort longtemps consiste à appliquer les chromatogrammes sur des films radiographiques sensibles, à gros grains.

Dans notre expérience, nous avons utilisé un film Kodak type Kodirex. L'ensemble est maintenu à l'obscurité pendant le temps nécessaire pour que les émulsions photographiques soient impressionnées sous l'effet des radiations ionisantes. Les particules ionisantes du Carbone 14 ou du Tritium vont créer, par la rupture de liaison brome-argent de cristaux d'argent contenus dans les émulsions photographiques, des images latentes, qui pourront être développées et rendues visibles. Lorsque le film photographique est développé, les zones de noircissement correspondent aux différentes substances radioactives séparées.

DOSAGES

• Parallèlement à la mise en évidence des macromolécules, se pose le problème du dosage de ces substances.

En effet dans les expériences ultérieures nous serons amenés à déterminer la concentration en stabilisant de la solution étudiée.

Pour cela nous avons cherché et mis au point des techniques permettant de doser la gélatine et le dextran.

I. DOSAGE DE LA GELATINE

On peut utiliser, pour doser la gélatine, une réaction chimique susceptible de détecter les liaisons peptidiques des protéines. La réaction du biuret est une des plus sensibles, et elle se prête à des déterminations quantitatives.

• Ce dosage est effectué selon la méthode préconisée par GORNALL (39).

Dans un tube à hémolyse contenant 2,4 ml de substance à étudier, on ajoute un millilitre de réactif de GORNALL. On laisse la coloration se développer pendant 30 minutes à l'obscurité. La concentration est alors déterminée au spectrophotomètre à 538 nm avec une cuve de 1 cm d'épaisseur.

La composition du réactif de GORNALL est la suivante :

<i>SO₄ Cu pur cristallisé</i>	<i>1,50 gr</i>
<i>Tartatre double de sodium et potassium</i>	<i>6 gr</i>
<i>Soude décarbonatée</i>	<i>30 gr</i>
<i>Iodure de potassium</i>	<i>1 gr</i>
<i>Eau distillée qs pour</i>	<i>1000 ml</i>

II. - DOSAGE DU DEXTRAN

La teneur en dextran des solutions pourra être effectuée soit par polarimétrie, soit par un dosage chimique à l'Anthrone.

1) Polarimétrie

Le dextran est un composé optiquement actif. Il se prête aisément au dosage polarimétrique. Son pouvoir rotatoire spécifique est :

$$(8) \quad [\alpha]_D^{20^\circ} = +199^\circ$$

Le dosage polarimétrique nous permettra de déterminer rapidement la teneur en dextran des solutions étudiées.

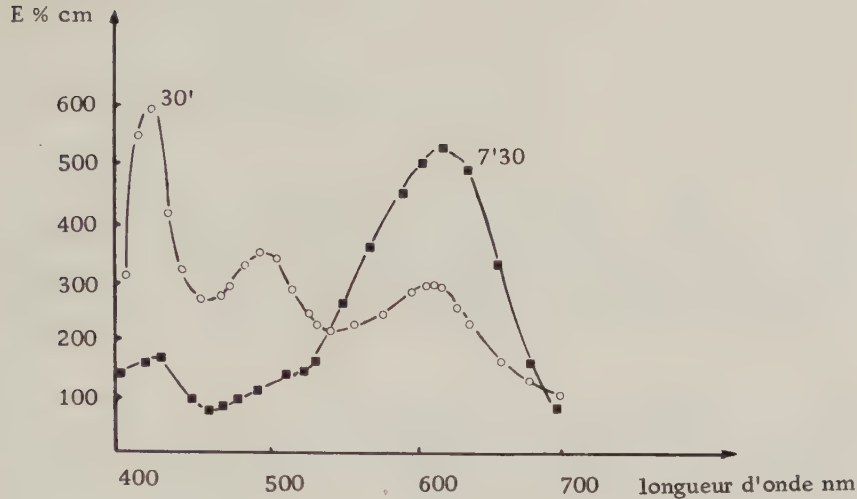


Fig. 7 - Influence du temps de chauffage à 100°C avec le réactif Anthrone à 75 % en acide sulfurique.

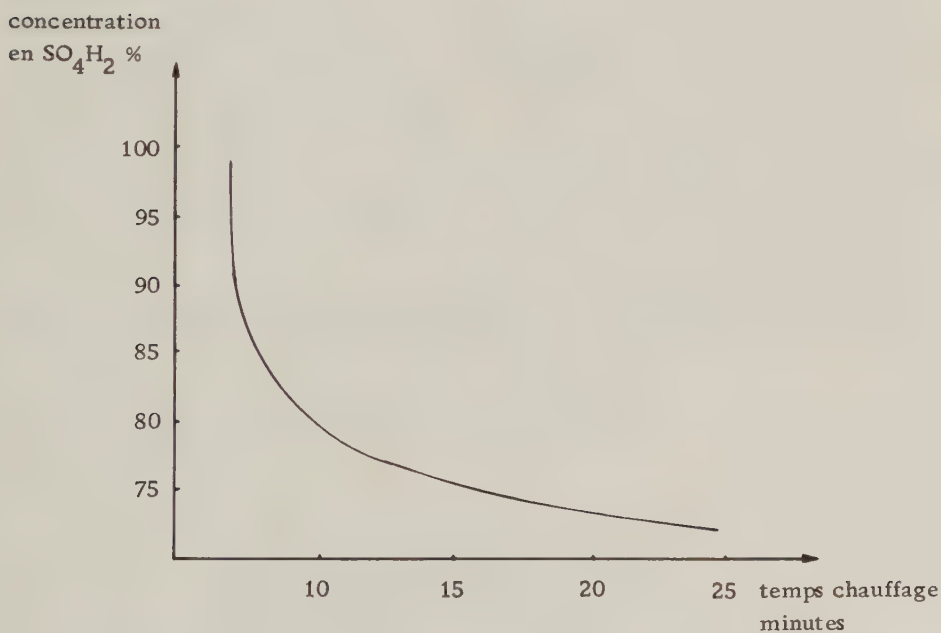


Fig. 8 - Recherche du temps de chauffage à 90°C en fonction de la concentration en acide sulfurique.

2) Réaction chimique à l'Anthrone

Ce dosage à l'anthrone fut d'abord utilisé par DREYWOOD (33) comme test qualitatif. D'autres chercheurs (115 - 9 - 95 - 75 - 76) ont transformé cette méthode en dosage quantitatif afin de déterminer les concentrations de sucrose, glucose, glycogène, lactose, cellulose et dextran en solution.

TROY et coll. (107) ont étudié les différents facteurs intervenant dans la précision des mesures, tels que la longueur d'onde d'absorption, le temps de chauffage en fonction de la concentration en acide sulfurique, ainsi que le domaine des concentrations dans lequel les mesures peuvent être effectuées (figures 7 - 8 - 9).

Nous avons repris l'étude de ces différents facteurs et en avons déduit le mode expérimental suivant :

Technique opératoire

On place des tubes à essais de 35 X 200 mm dans un panier métallique plongé dans un bain d'eau froide 10°C. On verse dans chaque tube 5 ml de la solution de dextran dont on veut déterminer la concentration. Un des tubes contiendra 5 ml d'une solution de concentration connue et servira de standard. Un deuxième tube contiendra 5 ml d'eau et servira de tube témoin. A l'aide d'une pipette de 10 ml à écoulement libre, on déposera avec précaution dans chaque tube 10 ml de réactif anthrone (2 gr d'anthrone pour 1000 ml $SO_4 H_2$ concentré). Le temps d'écoulement doit être le même pour chaque tube.

Les tubes sont ensuite agités énergiquement et portés dans un bain-marie à 90°C pendant 7 minutes. Ensuite ils sont ramenés à la température ambiante. Les lectures sont faites immédiatement à 625 nm.

La concentration en dextran proportionnelle à la coloration est calculée d'après la relation ci-dessous :

$$(9) \quad C_x = \frac{C_{st} (D_x - D_b)}{D_{st} - D_b}$$

relation dans laquelle :

C_x est la concentration à déterminer

C_{st} est la concentration solution standard

D_x est la densité optique de l'échantillon

D_b est la densité optique du blanc

D_{st} est la densité optique standard

Il faut noter que cette méthode de dosage est d'un maniement délicat et que plusieurs sources d'erreurs peuvent entacher les résultats.

En effet, le calcul de la concentration tient compte de la densité optique du standard ainsi que de celle du tube témoin. Or il arrive parfois que l'on ait un mauvais développement de la coloration dans l'un de ces tubes. D'autre part, le tube témoin ne donne pas de coloration reproductible. Ce dosage sera donc utilisé strictement dans le cas de teneur infime en dextran.

CHAPITRE III

DETERMINATION DES MASSES MOLECULAIRES

La détermination de la masse moléculaire des molécules décrites dans le deuxième chapitre a fait l'objet d'une étude approfondie, nous permettant de caractériser les échantillons utilisés.

• Le concept d'une masse moléculaire spécifique invariable pour une espèce de molécule particulière perd sa signification quand il s'agit d'un système de polymères. Dans ce cas, on considère que le système est composé d'espèces moléculaires analogues mais dont la distribution en poids et en nombre varie. Il est donc possible d'exprimer la moyenne et la distribution de cette propriété. Il est évident que suivant le paramètre de résolution de la distribution, on obtient une valeur particulière de la masse moléculaire moyenne.

• LANSING et KRAEMER (62) ont défini plusieurs types de masses moléculaires moyennes, notamment les moyennes en poids et en nombre.

$$(10) \quad \bar{M}_w = \frac{\sum_i n_i M_i^2}{\sum_i n_i M_i}$$

$$(11) \quad \bar{M}_n = \frac{\sum_i n_i M_i}{\sum_i n_i}$$

n_i est le nombre de molécules de l'espèce définie i
 M est la masse moléculaire de l'espèce i .

Dans le travail suivant nous avons déterminé la masse moléculaire en poids de tous les échantillons utilisés en faisant appel pour cela aux mesures de diffusion lumineuse.

DIFFUSION LUMINEUSE

I. — METHODE

• Par cette mesure, nous pouvons déterminer les masses moléculaires en poids des échantillons. Le principe de la diffusion lumineuse est le suivant :

Un faisceau lumineux monochromatique traverse la solution à analyser. Les molécules en solution provoquent une diffusion de la lumière. De nombreuses méthodes de mesures ont été développées par les utilisateurs de cette technique. Elles reposent sur les variations de l'intensité diffusée ou transmise avec l'angle d'observation, la polarisation et la longueur d'onde utilisée. D'autre part, le domaine de validité est déterminé par le comportement de la fonction de diffusion dont elle dépend. Pour des petites particules, la fonction de diffusion n'est pas sensible aux variations de taille. Par contre, pour des grosses particules la fonction de diffusion peut présenter des variations complexes, et à une valeur expérimentale donnée, peuvent correspondre plusieurs tailles de particules. Le choix de la méthode sera donc dicté par le domaine de taille étudié. Les théories étant établies pour une particule diffusante, leur application à un système contenant N particules par unité de volume exige que les solutions soient très diluées de telle manière que les particules diffusent indépendamment.

• L'appareil utilisé pour nos mesures de diffusion lumineuse est le photogoniomètre conçu et mis au point par WIPPLER et SCHEIBLING (123) et construit par la Société Française d'instruments de contrôle et d'analyses (FICA) sur brevet du C.N.R.S. Une description détaillée de cet appareil est donnée par les constructeurs* : nous nous bornerons à la décrire succinctement. Un faisceau de lumière incidente issu d'une lampe à vapeur de mercure SP 500, dont la direction et la section sont déterminées respectivement par un prisme à réflexion totale et la fente source, éclaire une cellule de mesure. On a placé sur le trajet de ce faisceau lumineux un filtre WRATTEN permettant ainsi de travailler soit en lumière verte, soit en lumière violette. On interpose sur ce faisceau des polariseurs de type polaroïde, ceci afin de permettre d'éclairer la cellule de mesure en lumière polarisée, soit verticalement, soit horizontalement. La cellule de mesure est immergée dans du benzène dont l'indice de réfraction est égal à celui du verre utilisé. On élimine ainsi la lumière parasite due aux réflexions et réfractions sur les faces de la cellule de mesure. Le système optique du faisceau diffusé est solidaire d'un plateau mobile autour de l'axe de la cellule de mesure. En se déplaçant, le plateau entraîne le bloc faisceau diffusé en lui faisant décrire un arc de cercle autour de la cellule de mesure, de façon à voir la lumière diffusée sous différentes positions angulaires allant de 30° jusqu'à 150° . La lumière diffusée à sa sortie est reçue par une lentille et un prisme à réflexion totale qui la renvoie sur la photocathode d'un multiplicateur d'électrons. Le courant fourni par le photomultiplicateur est alors reçu par un galvanomètre à six gammes de sensibilité. La quantité de courant fournie par le photomultiplicateur dépend du pouvoir diffusant de la solution étudiée, mais elle dépend aussi de l'intensité du faisceau incident, de la valeur du volume diffusant et de la distance photo-cathode-centre de la cellule.

* Notice d'emploi numéro 40000 A.

La contribution de ces trois derniers facteurs ne pouvant être mesurée séparément, elle sera déterminée par un étalonnage préalable de l'appareil.

• Pour passer de la mesure de la diffusion lumineuse à la détermination de la masse moléculaire, il faut tenir compte de la longueur d'onde de la lumière, de l'accroissement de l'indice de réfraction avec la concentration de la solution, de la valeur de la diffusion du benzène qui sert pour l'étalonnage de l'appareil. Lorsqu'on opère en lumière naturelle, on admet que les centres diffusants sont indépendants et on peut écrire la loi de RAYLEIGH-GANS.

$$(12) \quad \frac{KC}{R(\theta)} = \frac{1}{M P(\theta) (1 + \cos^2 \theta)}$$

— $R(\theta)$ étant défini par le rapport

$$(13) \quad R(\theta) = \frac{I_{\theta} b^2}{I_0}$$

— Dans cette relation I_{θ} est l'intensité diffusée dans la direction θ et I_0 est l'intensité incidente, b est la distance du photomultiplicateur au centre diffusant.

— Pour $\theta = 90^\circ$, ce rapport est appelé rapport de RAYLEIGH.

— C est la concentration du soluté, M est la masse moléculaire que l'on veut déterminer. La constante K est déterminée de la façon suivante :

$$(14) \quad K = \frac{2 \pi^2 n_0^2}{\lambda^4 N} \left(\frac{dn}{dc} \right)^2$$

Dans cette relation, n_o est l'indice du solvant, N le nombre d'AVOGADRO, $\frac{dn}{dc}$ est l'incrément d'indice de réfraction de la solution. $P(\theta)$ est une fonction appelée facteur de diffusion. Ce facteur rend compte des interférences qui peuvent se produire entre les différentes ondes émises par les divers points d'un même élément diffusant dans une direction donnée. $P(\theta) = 1$ pour $\theta = 0$, car il n'y a pas de différence de marche dans la direction incidente.

• Cette équation (11) n'est valable que lorsque les éléments diffusants sont indépendants. Ceci n'est donc exact qu'à dilution infinie et après avoir soustrait la diffusion du solvant. Lorsque l'on a affaire à des solutions concentrées, on peut montrer d'après le calcul de DEBYE à partir de la théorie des fluctuations que :

$$(15) \quad \frac{KC}{R} = \left(\frac{1}{M} + 2BC + 3D^2C + \dots \right) \frac{1}{1 + \cos^2\theta} \frac{1}{P(\theta)}$$

équation dans laquelle B et D sont des constantes correspondant au deuxième et au troisième coefficient du viriel.

• Finalement cette équation montre que pour obtenir la fonction $P(\theta)$ qui conduit à la forme et aux dimensions de la macromolécule étudiée, ainsi qu'à sa masse moléculaire, on est amené à opérer une double extrapolation à concentration nulle et à angle nul.

C'est ce que propose la **méthode graphique de ZIMM** (124) qui repose sur le fait qu'à un angle d'observation nul, les interférences disparaissent et la fonction corrective $P(\theta)$ prend la valeur 1. La mesure de l'intensité diffusée à cet angle étant impossible, le résultat s'obtient par extrapolation de ceux obtenus aux angles observables supérieurs à 30° . ZIMM a montré que cette extrapolation pouvait être effectuée sur le même diagramme que l'extrapolation à concentration nulle.

Pour cela, on porte KC/R en fonction de $\sin^2 \theta / 2 + AC$. A étant une constante arbitraire choisie pour une bonne représentation graphique, de façon à ce que les deux termes soient du même ordre de grandeur. Les points expérimentaux définissent deux réseaux de courbes. Les courbes d'équiconcentration représentant l'inverse de la fonction $P(\theta)$ à une constante près, pour chaque concentration étudiée. Le réseau de courbes obtenu s'extrapole simultanément à concentration et à angle nul définissant la valeur de $1/M_w$.

II. - RESULTATS

1 - Gélatine

a) Conditions expérimentales

Les mesures de diffusion lumineuse sont effectuées sur des échantillons de gélatine mis en solution dans du chlorure de sodium 0,15 M afin de bloquer l'ionisation. La teneur en gélatine varie de 0,01 gramme par millilitre à 0,002 gramme par millilitre. Toutes les mesures sont faites à 37°C. A cette température, la gélatine est dispersée dans les meilleures conditions, et l'absence de microgels est totale. Le dépoussiérage des solutions étudiées est obtenu par centrifugation à 11000 tours minute pendant 20 minutes à 30°.

Les lectures de l'intensité diffusée sont effectuées en lumière polarisée verticalement et à 546 nm à différents angles compris entre 30° et 150°, cela pour chaque concentration.

Le diagramme de ZIMM conduit à la valeur limite
$$[C/R]_{\substack{\theta = 0 \\ C = 0}}$$

• Cette extrapolation nous permet de calculer la masse moléculaire en poids M_w en faisant appel à la relation (12) précédemment définie.

$$(12) \quad \frac{KC}{R(\theta)} = \frac{1}{M P(\theta) (1 + \cos^2 \theta)}$$

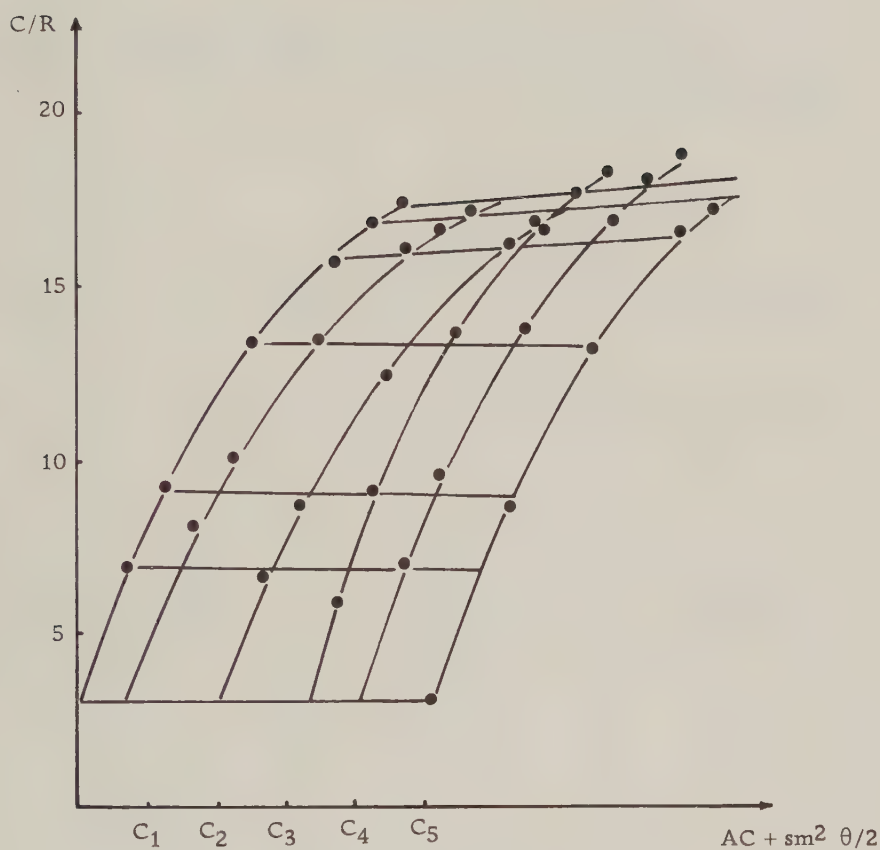


Fig. 10 - Diagramme de diffusion lumineuse de la gélatine

Cependant la valeur de la constante K donnée par la relation (13) nécessite la détermination préalable de l'incrément d'indice dn/dc , valeur qui varie avec l'échantillon étudié.

Pour cela nous avons utilisé un réfractomètre interférentiel de RAYLEIGH.

Les mesures sont faites en lumière rendue monochromatique, en interposant, sur le faisceau de lumière incidente, des filtres interférentiels.

La valeur de l'incrément d'indice dn/dc se déduit de la valeur de la pente de la droite représentant les variations de la différence d'indice mesurées en fonction de la concentration.

b) Résultats

— Le graphique 10 représente le diagramme de diffusion lumineuse d'un échantillon de gélatine non dégradée thermiquement avec une précision de 10 pour 100.

• Dans le tableau 1 nous avons porté la masse moléculaire en poids des divers lots de gélatine obtenus par dégradation thermique.

La valeur de l'incrément d'indice dans ces expériences est de 0,185.

Lots de gélatine	Temps de dégradation	Masse moléculaire moyenne en poids Mw
G_0	0 minute	1 320 000
$G_{0,3}$	20 minutes	655 000
G_2	2 heures	440 000
G_4	4 heures	350 000
G_6	6 heures	332 000
G_8	8 heures	293 000
G_{17}	17 heures	170 000

Tableau 1 : Variation de la masse moléculaire moyenne en poids de la gélatine en fonction du temps de dégradation thermique.

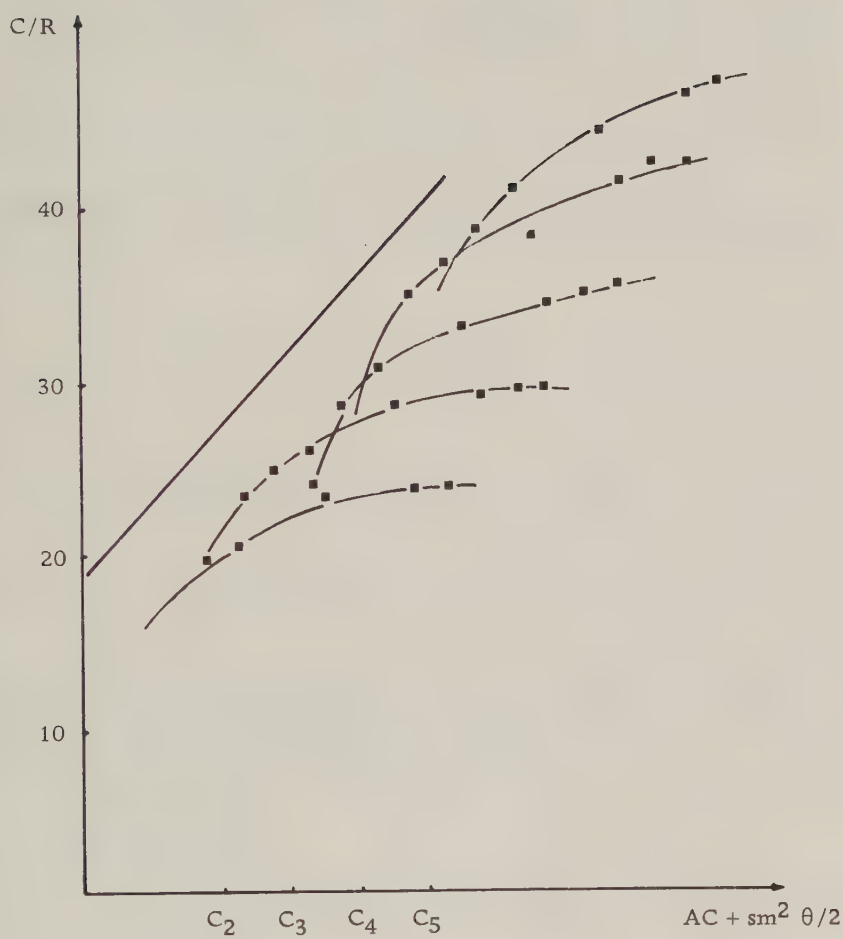


Fig. 11 - Diagramme de diffusion lumineuse du Dextran 500

2 - Dextran

a) Conditions expérimentales

Le dextran est dispersé à 80°C dans de l'eau distillée. Les solutions sont ensuite ramenées à la température ambiante, température à laquelle seront effectuées les mesures de diffusion lumineuse.

La teneur en dextran dans chaque échantillon varie de 0,01 gramme par millilitre à 0,002 gramme par millilitre.

Le dépoussiérage de ces solutions est obtenu par centrifugation à 10000 tours minute pendant 20 minutes à 20°C.

b) Résultats

La pente de la droite $dn = f(c)$ conduit à une valeur de $dn/dc = 0,151$.

Le graphique 11 représente le diagramme de ZIMM pour un échantillon de dextran 500 sur lequel sont portées en abscisse les valeurs de $\sin^2 \theta/2 + AC$, et en ordonnée les valeurs de C/R .

L'extrapolation de ces diagrammes de ZIMM conduit aux résultats portés dans le tableau 2.

Dextran	Masse moléculaire moyenne en poids Mw
20	21 800
40	46 000
80	72 000
110	100 500
250	264 000
500	370 000

Tableau 2 : Détermination par diffusion lumineuse de la masse moléculaire moyenne en poids des divers lots de dextran.

c) Analyse des résultats

Les diagrammes de ZIMM se présentent sous la forme de courbes accusant une cassure très nette aux petits angles et non plus comme un réseau de droites parallèles. Cette allure est certainement due à la présence de nombreuses ramifications le long de la chaîne principale du dextran considéré. KRATOCHVIL (60) a signalé par ailleurs, que la présence de microgels dans la solution pouvait conduire à des représentations graphiques similaires. Dans ces conditions, l'extrapolation courante à angle nul et à concentration nulle n'est plus exploitable. On ne tient compte que de la diffusion lumineuse obtenue pour des angles supérieurs ou égaux à 90° . On néglige de ce fait la diffusion aux petits angles. Cependant une telle extrapolation peut introduire une certaine incertitude dans les résultats.

Les valeurs des masses moléculaires portées dans le tableau 2 obtenues en négligeant la diffusion aux petits angles, concordent avec celles citées par le fabricant.

3 – Polyvinyl Pyrrolidone

a) Conditions expérimentales

Les mesures de diffusion lumineuse ont porté sur des solutions aqueuses de P.V.P. dont la teneur variait de 0,03 gramme par millilitre à 0,006 gramme par millilitre. Ces solutions ont été centrifugées à 10000 tours minute pendant 20 minutes afin d'être dépoussiérées.

b) Résultats

Les mesures de l'incrément d'indice conduisent dans le cas de la P.V.P. à une valeur de 0,157.

Le graphique 12 représente le diagramme de ZIMM d'un échantillon de P.V.P. K₃₀.

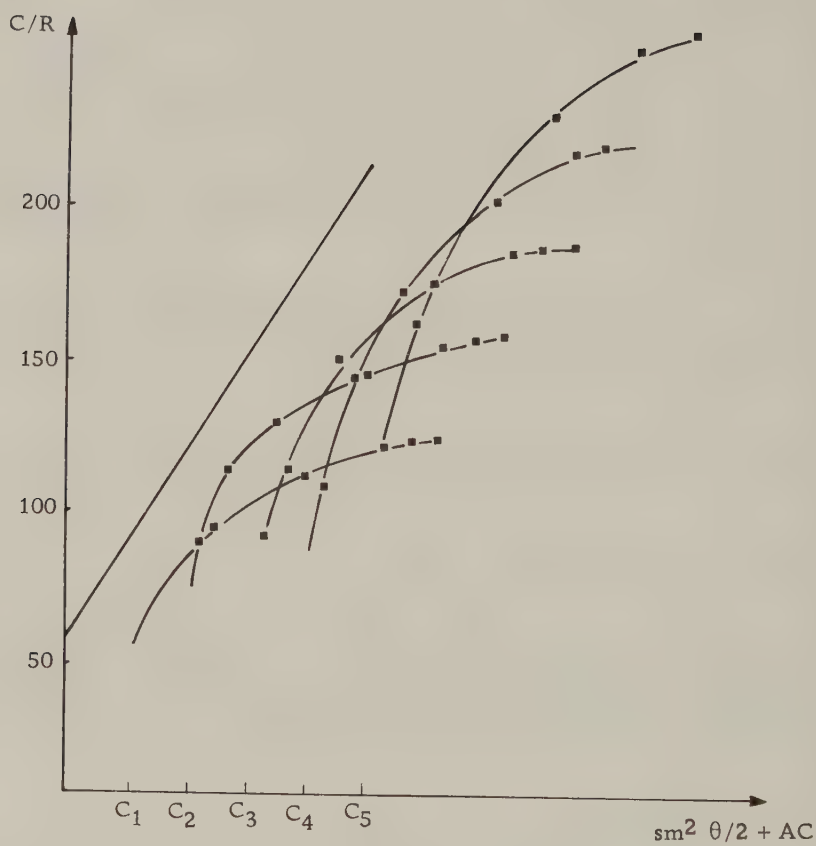


Fig. 12 - Diagramme de diffusion lumineuse de la P.V.P. K₃₀

Les résultats obtenus sont portés dans le tableau 3.

Polyvinyl Pyrrolidone	Masse moléculaire moyenne en poids Mw
K 15	32 700
K 26	67 000
K 30	82 000
K 60	490 200
K 90	1 225 000

Tableau 3 : Masses moléculaires moyennes en poids de divers lots de P.V.P. déterminées par diffusion lumineuse.

Les diagrammes de ZIMM ont une allure analogue à ceux obtenus avec le dextran. Nous avons donc utilisé une extrapolation analogue à celle précédemment décrite en négligeant la diffusion aux petits angles.

CHAPITRE IV

COLLOIDES MINERAUX

PRINCIPES GENERAUX DE LA PREPARATION DES COLLOIDES

• Les moyens employés pour obtenir des colloïdes minéraux sont très divers. Ils peuvent être suivant le cas, mécaniques, physiques ou chimiques. Ces derniers étant les plus importants et conduisant à la formation de colloïdes micellaires. Parmi les moyens chimiques utilisés, il faut noter l'hydrolyse, la double décomposition et la réduction.

• L'obtention des colloïdes par hydrolyse est applicable aux métaux dont l'hydroxyde est complètement insoluble dans l'eau, tels l'aluminium, le chrome, le fer. Ainsi l'hydroxyde ferrique colloïdal est obtenu par hydrolyse du chlorure, le sulfure d'arsenic l'est par action de l'hydrogène sulfuré sur l'acide arsenieux dissous.

Cette méthode par hydrolyse présente l'avantage de n'introduire aucun élément chimique étranger.

• Quant à la double décomposition, c'est une des méthodes les plus couramment utilisées. C'est ainsi que le bromure d'argent colloïdal est obtenu par réaction du bromure de potassium sur du nitrate d'argent en léger excès. On peut obtenir dans des conditions semblables, de l'iodure d'argent colloïdal.

Certains colloïdes comme les hydrosols d'or peuvent être obtenus par réduction. De nombreux réducteurs tels que :

l'hydrazide (47), l'oxyde de carbone (32), des hexoses, du citrate de sodium (74), de l'eau oxygénée (31) peuvent être retenus. Cependant, le réducteur le plus couramment utilisé est le formol.

I. – PREPARATION DU COLLOÏDE D'OR

Pour la préparation du colloïde d'or, nous avons utilisé la méthode par réduction. Pour cela nous avons essayé deux réducteurs.

1 – Le glucose

Le glucose est un réducteur utilisé par le Commissariat à l'énergie atomique pour l'obtention d'or colloïdal radioactif.

a) Conditions expérimentales

Le protocole expérimental que nous avons suivi est le suivant :

– 25 ml d'une solution de glucose à 40 pour 100 sont neutralisés par 4,5 ml de soude 2 N. La solution est ensuite chauffée à 90°C et l'on introduit 25 ml d'une solution de chlorure d'or à 0,7 pour 100.

b) Résultats

• Les colloïdes ainsi obtenus avaient une nette tendance à flocculer spontanément.

Certaines variantes apportées au protocole expérimental telles que modification de la quantité initiale de glucose, température de chauffage ne nous ont pas permis d'améliorer la stabilité du colloïde.

Nous avons donc fait appel à un deuxième réducteur, le formol.

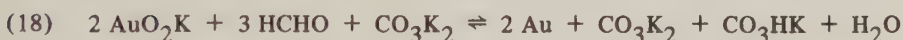
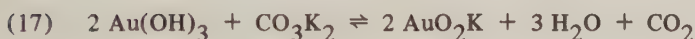
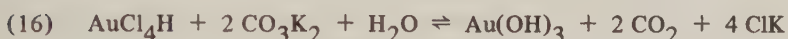
2 - Le formol

a) Conditions expérimentales

Nous avons repris le protocole expérimental préconisé par ZSIGMONDY (125) qui consiste à réduire le chlorure d'or préalablement alcalinisé par quelques gouttes de carbonate de potassium.

- 120 ml d'eau bidistillée sont portés à ébullition. Pendant le chauffage on ajoute 2,5 ml de Cl_3Au à 0,6 pour 100 et 1,5 ml de CO_3K_2 0,18 M. Dès l'ébullition, on introduit goutte à goutte en agitant 0,4 ml d'une solution officinale de formol à 0,3 pour 100. La coloration rouge caractéristique du colloïde d'or apparaît et s'intensifie par refroidissement.

Ce procédé d'obtention de l'or colloïdal peut être schématisé par les équations ci-dessous :



b) Résultats

• Les sols d'or préparés selon ce protocole expérimental présentent une teneur en or relativement faible. Nous avons cherché à augmenter cette teneur en or afin d'obtenir un matériel qui se prête bien aux examens en microscopie électronique. Pour cela nous avons fait varier les proportions des divers constituants entrant dans la préparation du colloïde d'or.

Nous avons obtenu ainsi, une gamme de préparations dont les conditions expérimentales sont résumées dans le tableau ci-dessous :

ml solution $\text{Cl}_3 \text{ Au}$ 0,6 pour 100	2,5	3	3,5	4	4,5	5	5,5	6
CO_3K_2 0,18 M en ml	1,5	2,2	2,3	2,4	2,5	2,7	2,9	3
ml formol 0,3 pour 100	0,4	0,5	0,6	0,8	1,1	1,3	1,7	2,75

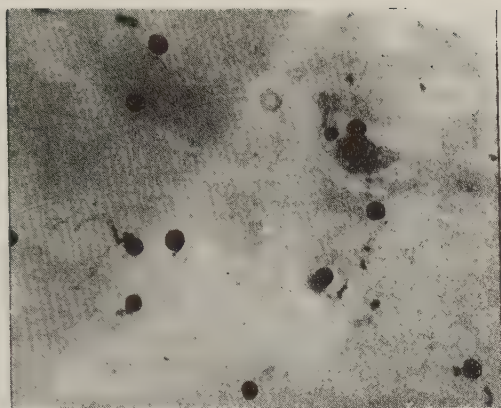
Tableau 4 : Préparation de colloïde d'or ayant une teneur en or variable.

Dans nos expériences ultérieures, nous avons retenu les conditions opératoires mettant en jeu au départ, 5 ml de chlorure d'or à 0,6 pour 100. Nous obtenons un hydrosol d'or ayant une teneur en or de 0,12 mg/ml. Le pH final de la solution est de 7. Les micelles d'or ont une dimension voisine de 400 Å. Le sol est d'apparence peu polydispersé (cliché 1).

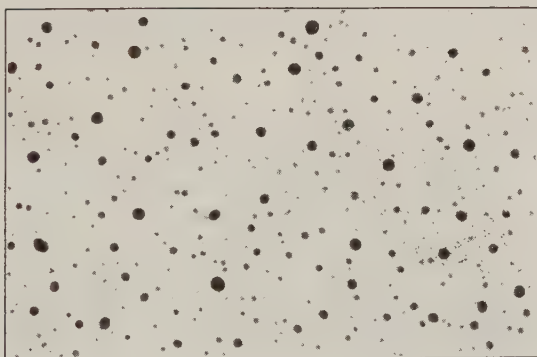
• La formation de ces particules colloïdales est en grande partie due à une réaction auto-catalytique. La naissance des premiers germes d'or est un processus encore obscur. Mais une fois qu'ils sont formés, l'or réduit se dépose sur eux et les transforme en grains de plus en plus gros. ZSIGMONDY (126) et surtout TURKEVITCH (109) ont distingué la phase de formation des germes ou « nucléation » et la phase de leur croissance.

— Ces deux phases existent simultanément dans le milieu où se forme le sol et il existe une compétition entre le processus de nucléation et le processus de croissance des noyaux.

— L'obtention des sols monodispersés implique que le processus de nucléation soit rapide pour que toutes les micelles aient le même temps de croissance.



Cliché N°1 Colloïde d'or, grossissement : 50 000 fois
 Dimension de la micelle 400 Å



Cliché N°2 Colloïde d'or, grossissement : 50 000 fois
 Dimension voisine de 50 Å et quelques
 particules inférieures à 200 Å

• Lors des préparations ultérieures de colloïdes ayant des dimensions différentes, afin de ne pas utiliser divers réducteurs, nous avons modifié le protocole expérimental en jouant sur les quantités de formol employées ainsi que sur le pH de la solution lors de la réduction.

Nous avons obtenu de cette façon là des colloïdes de dimensions différentes.

3 – Obtention de colloïdes de petites dimensions

a) Conditions expérimentales

Le mode opératoire est le suivant :

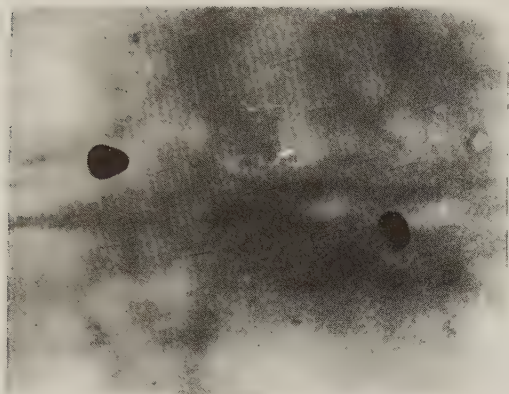
• 120 ml d'eau distillée sont portés à ébullition. Pendant le chauffage, 5 ml d'une solution de chlorure d'or à 0,6 pour 100 sont ajoutés ainsi que 2,5 ml de CO_3K_2 .

Dès que le mélange atteint l'ébullition, on ajoute alors goutte à goutte 1,3 ml de formol en amenant le pH de la solution à 7 par l'introduction de quelques gouttes supplémentaires de carbonate de potassium.

La coloration apparaît immédiatement et s'intensifie rapidement.

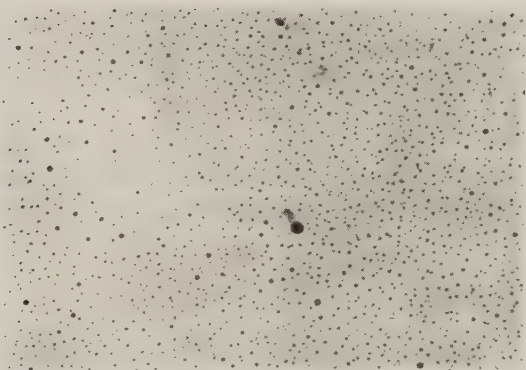
b) Résultats

Sur le cliché 2 nous voyons que la population en particules de très petites dimensions est fort importante ; leur dimension se situe aux alentours de 50 Å. Il faut noter la présence de particules de dimensions plus grandes mais cependant inférieures à 200 Å.



Cliché N°3

Colloïde d'or, grossissement : 50 000 fois
Dimension : 1000 Å



Cliché N°4

Colloïde de bromure d'argent, grossissement : 40 000 fois
Petites dimensions

4 – Obtention de colloïdes de grandes dimensions

a) Conditions expérimentales

Le mode opératoire est le suivant :

• 120 ml d'eau distillée contenant 5 ml de la solution de chlorure d'or sont portés à ébullition. Pendant le chauffage, nous ajoutons un léger excès de carbonate de potassium (2,8 ml). Le formol est ajouté à l'ébullition comme précédemment goutte à goutte (1,3 ml). La coloration n'est pas immédiate, il est nécessaire de chauffer pendant que l'on ramène le pH de la solution à 7 avec quelques gouttes de formol.

Il est important que le pH de la solution de départ ne soit pas trop alcalin, sinon les hydrosols obtenus ont une coloration bleu limpide.

b) Résultats

Les hydrosols obtenus par cette méthode ont des dimensions voisines de 1000 Å (cliché 3).

II. – PREPARATION DU BROMURE D'ARGENT COLLOIDAL A L'ETAT NAISSANT

• Le bromure d'argent colloïdal peut être obtenu par une réaction de double décomposition entre le bromure de potassium et le nitrate d'argent, selon certaines conditions expérimentales.

• LEVI et STEPANOVA (67), par addition d'une solution 0,1 N de bromure de potassium obtiennent un colloïde de bromure d'argent. Quant à nous, après quelques essais, nous avons adopté le protocole suivant :

a) Conditions expérimentales

• Dans un récipient A, on mélange 240 ml d'eau distillée et 60 ml d'une solution de KBr à 0,12 mole/litre. Dans un récipient B, on verse 60 ml d'une solution de NO_3Ag à 0,006 mole/litre. Le contenu de A est versé dans B. Le temps d'addition est de 30 secondes, la solution est agitée au moment de l'addition et pendant 15 minutes après la fin de l'addition.

On obtient ainsi un hydrosol à 0,001 mole/litre d'AgBr, stabilisé par un excès de KBr à 0,01 mole/litre.

b) Résultats

Le colloïde est de petites dimensions (cliché 4).

TESTS DE STABILITE

CHAPITRE V

TESTS DE STABILITE

La floculation d'un sol minéral reflète l'évolution d'une solution colloïdale au sein de laquelle les particules initialement dispersées s'agglomèrent.

- Cette floculation peut intervenir naturellement au cours du temps (nous observons ce phénomène dans le cas du bromure d'argent colloïdal), ou bien peut être favorisée par la présence d'un électrolyte.

- De nombreux auteurs ont essayé de décrire quantitativement cette floculation, en déterminant une « concentration de floculation » qui est définie comme étant la plus petite quantité d'électrolyte nécessaire pour provoquer la floculation totale du sol, au bout d'un temps choisi empiriquement égal et variable suivant les auteurs.

Certaines données cinétiques, telles que la mesure de la vitesse de croissance de la taille des particules, ont donné des résultats lors de l'étude des colloïdes d'halogénure d'argent (15 – 16 – 17 – 18). Ces déterminations sont effectuées généralement par turbidité ou par diffusion lumineuse (71 – 59 – 120).

Ces tests sont intéressants, mais sont d'un emploi difficile lorsque l'on veut étudier une solution colloïdale colorée.

Les valeurs obtenues ne sont que relatives et de ce fait ne permettent en aucune façon, une comparaison entre divers systèmes étudiés (105 – 108).

Ces considérations nous ont amené à essayer de mettre au point un test plus généralement applicable à divers colloïdes.

APPLICATION AU COLLOÏDE DE BROMURE D'ARGENT

- Le sol de bromure d'argent se présente, au moment de sa préparation, sous la forme d'une solution légèrement opalescente. Cette opalescence s'intensifie naturellement au cours du temps, pour donner une solution laiteuse au bout de vingt quatre heures. En présence de chlorure de sodium, la floculation est obtenue en quelques minutes.

- Des essais préliminaires concernant la teneur en électrolyte à utiliser et dont les résultats sont portés sur le **graphique 13** nous ont amenés à choisir une concentration en chlorure de sodium de 0,005 gramme par millilitre de colloïde.

RESULTATS

Nous avons appliqué le test précédemment décrit au colloïde de bromure d'argent stabilisé par la gélatine, le dextran ou la polyvinyl-pyrrolidone.

- Les résultats sont portés sur les **graphiques 14 — 15 — 16** et nous permettent de noter que, quelle que soit la macromolécule stabilisante étudiée, les courbes s'étagent les unes au-dessous des autres, au fur et à mesure que la teneur en stabilisant augmente, pour conduire, à quelques exceptions près à une valeur de l'indice diffusimétrique D voisine de 15.

- La variation de D est en général très rapide dans les premières secondes et se stabilise ensuite au bout de cinq minutes.

- Remarquons qu'avec la gélatine et la P.V.P., l'indice diffusimétrique D , à partir d'une certaine concentration en stabilisant, ne varie plus au cours de l'addition de l'électrolyte.

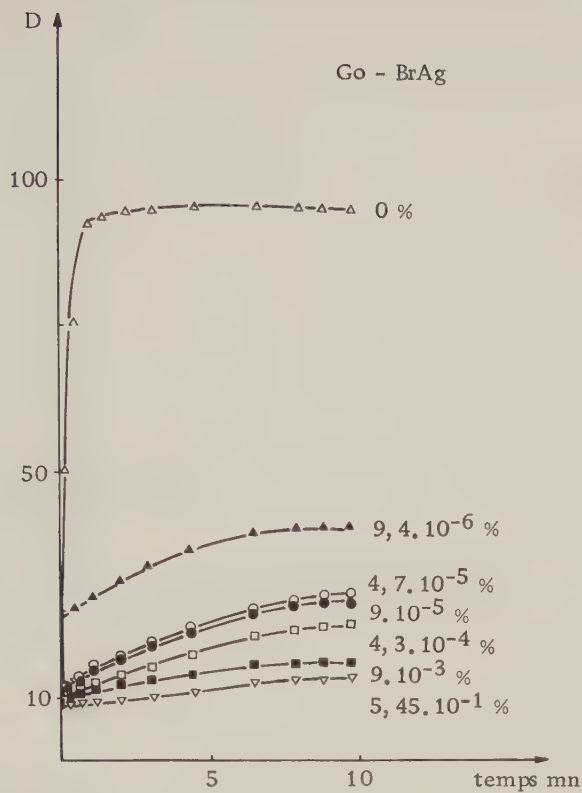


Fig. 14

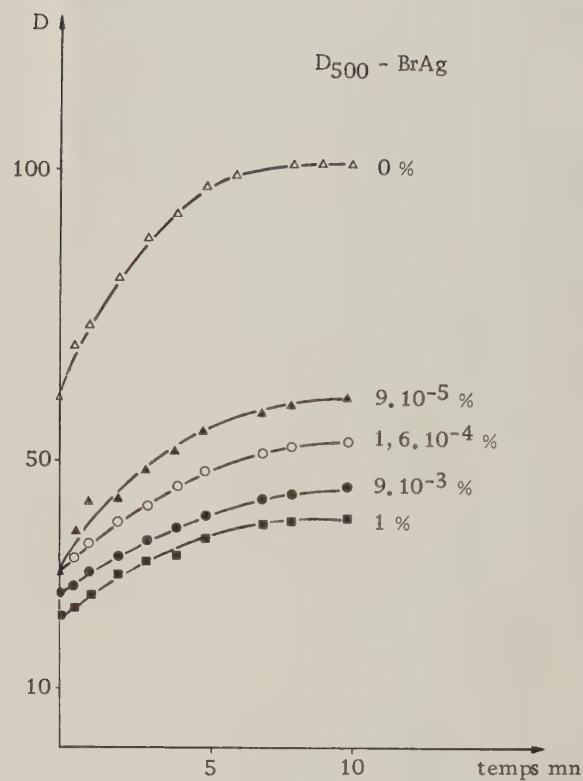


Fig. 15

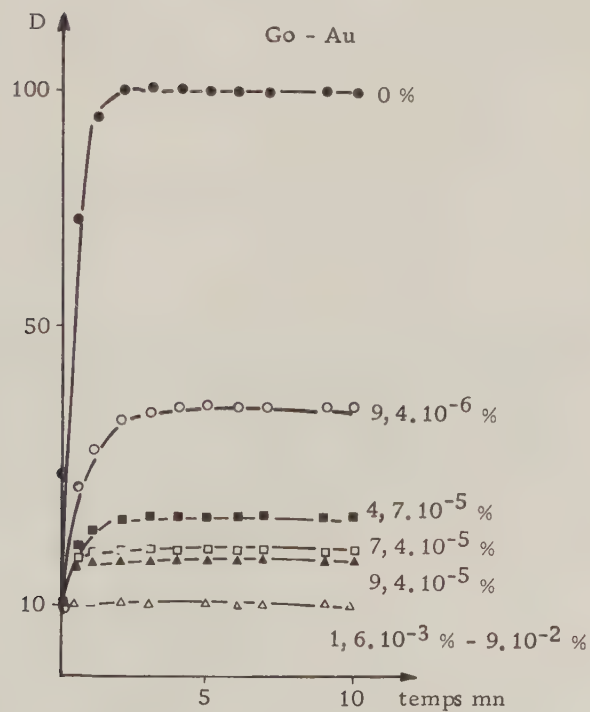


Fig. 17

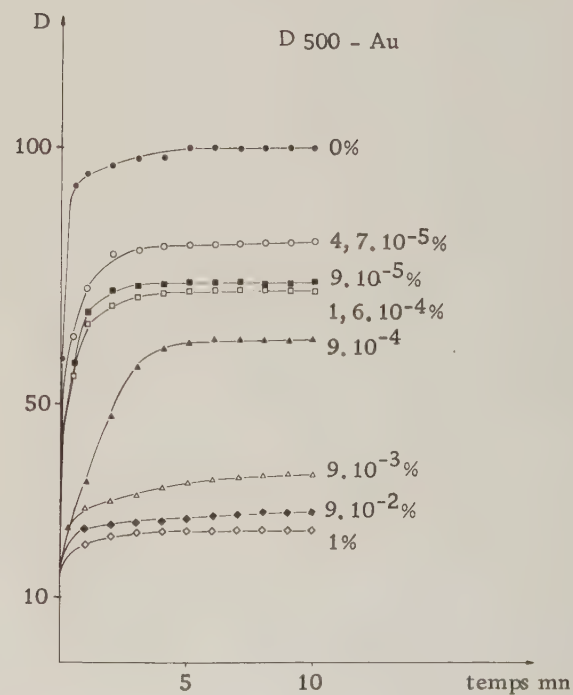


Fig. 18

APPLICATION AU COLLOÏDE D'OR

Le colloïde d'or se présente sous la forme d'une solution rouge limpide.

Nous avons appliqué le test de stabilité précédemment décrit au colloïde d'or stabilisé par la gélatine, le dextran et la P.V.P.

Le protocole expérimental et le principe de la mesure sont identiques à ceux précédemment décrits. La concentration en chlorure de sodium est de 0,01 gramme par millilitre de colloïde.

RESULTATS

Les résultats concernant les systèmes étudiés sont transcrits sur les graphiques 17 – 18 – 19.

Nous observons une évolution du sol comparable à celle obtenue avec le bromure d'argent.

INTERPRETATION QUALITATIVE DU TEST PROPOSE

Nous allons interpréter la signification du test que nous avons décrit, en suivant pour cela, la floculation du sol, au moyen de la microscopie électronique. Dans le cas de l'or, il était intéressant de suivre comparativement par microscopie électronique ce test, et celui proposé par THIELE (106). Nous avons donc eu besoin de déterminer la valeur protectrice selon THIELE. Nous donnons ci-dessous le protocole expérimental suivi et les résultats obtenus.

I – DETERMINATION DE LA VALEUR PROTECTRICE SELON THIELE

Dans le cas du colloïde d'or, il est aisé de suivre la floculation du sol par la méthode de ZSIGMONDY. Le principe de cette méthode est basé sur le changement de couleur du sol d'or rouge, sous l'action du chlorure de sodium.

Des mesures d'extinction effectuées par MIE (73) indiquent que lorsque la taille des particules augmente (cas de la floculation), on note un déplacement du maximum d'extinction du sol vers les grandes longueurs d'onde. Le colloïde prend alors une couleur bleue qui est due au fait que, dans le cas des colloïdes, l'indice de réfraction complexe $m = n - ik$ (n est un paramètre de réfraction et k un paramètre d'absorption) varie à la fois avec la longueur d'onde de la lumière incidente et le diamètre des particules.

Cependant, cette coloration bleue n'est pas toujours imputable uniquement à un colloïde floculé. DE BROUCKERE (21) montre que suivant le mode d'obtention utilisé, on peut avoir des sols d'or bleus. TURKEVITCH (110) indique que la présence d'oxyde cuivreux dans le sol peut conduire à la formation d'un sol bleu.

Cependant, lorsque la solution initiale est rouge, on peut considérer que l'apparition de la couleur bleue est significative d'un sol floculé. Le test de ZSIGMONDY consiste à étudier l'action du chlorure de sodium (0,01 gr/ml d'or) sur des sols protégés par des concentrations croissantes en macromolécules stabilisantes et à noter la teneur en stabilisant juste nécessaire pour éviter le changement de coloration du sol.

a) Conditions expérimentales

Nous avons appliqué aux systèmes précédents la méthode de ZSIGMONDY modifiée par THIELE (106). *A savoir que 1 millilitre de chlorure de sodium à dix pour 100 est introduit dans dix millilitres de colloïde d'or contenant des quantités croissantes en stabilisant, cela après avoir laissé le sol et l'agent stabilisant trente minutes en contact.*

b) Résultats

• Le changement immédiat de coloration du sol permet de déterminer pour quelle teneur en stabilisant, nous pouvons considérer que le sol flocule ou non. Compte tenu de la concentration en or dans le colloïde préparé, nous pourrions calculer la valeur protectrice du stabilisant utilisé. Valeur protectrice définie par THIELE comme étant la quantité minimum en gramme de colloïde protecteur nécessaire pour stabiliser un gramme d'or.

Nous avons porté sur le tableau ci-dessous les valeurs protectrices des échantillons de gélatine, dextran et P.V.P. utilisés dans nos mesures précédentes.

Stabilisant étudié	Valeur protectrice
gélatine	150
dextran	0,034
P.V.P.	48

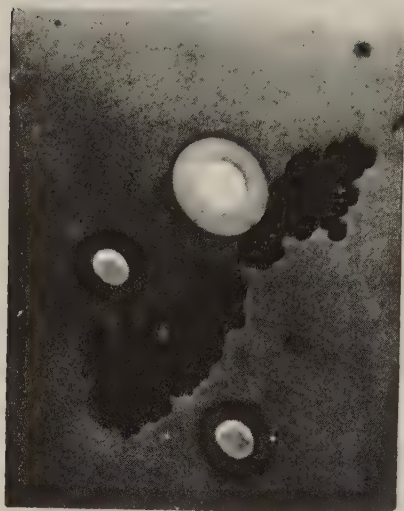
Tableau 5 : Valeurs protectrices des échantillons étudiés.

II. - COMPARAISON DES TESTS DE FLOCCULATION - ETUDE AU MICROSCOPE ELECTRONIQUE

• Etant donné que le colloïde d'or se prête aisément à la détermination de la stabilisation par deux méthodes faisant appel à des mesures différentes, nous allons étudier ici en parallèle, la variation de l'intensité diffusée par les particules d'un sol d'or protégé ou non, avec le changement de coloration correspondant à la détermination de la valeur protectrice.

Ces résultats nous permettront de situer pour un système donné, dans quelle zone de l'indice diffusimétrique D nous pourrions considérer que le sol est stable. Nous avons complété cette étude par une observation simultanée en microscopie électronique des sols étudiés en diffusion lumineuse. Les clichés correspondent à l'état du sol en présence du chlorure de sodium, après un temps d'observation de dix minutes.

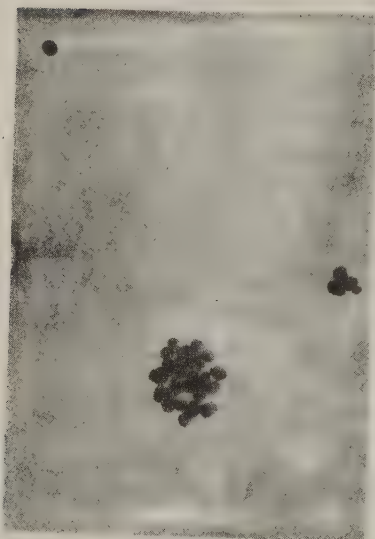
Cette observation en microscopie électronique (clichés 5 - 6 - 7 - 8) permet de voir que le test que nous avons proposé présente l'avantage de permettre de suivre l'évolution du sol au cours de la floculation et de la protection.



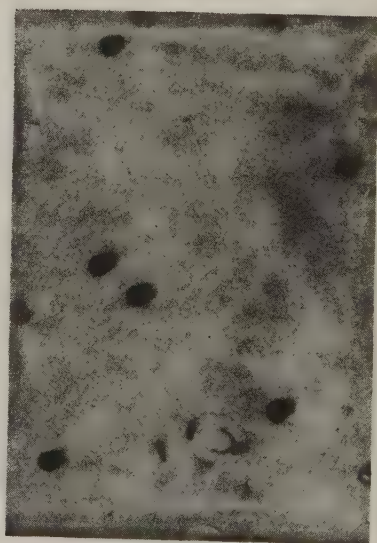
Cliché N°5



Cliché N°7



Cliché N°6



Cliché N°8

Comparaison des tests de floculation. Etude en microscopie électronique d'un colloïde d'or en présence de quantité variable de gélatine.
Grossissement : 40 000 fois

Nos résultats nous conduisent à distinguer deux zones de stabilisation.

- La première zone de stabilisation : la microscopie électronique (cliché 8) et l'étude de la lumière diffusée montrent que, les particules colloïdales sont parfaitement bien séparées, il n'y a pas d'agglomérats, et dans ce cas la valeur de D reste constante. Par exemple dans l'étude de l'or stabilisé par de la gélatine mère G_0 , cette zone de stabilisation correspond à des concentrations en gélatine dans le mélange réactionnel de $1,6 \cdot 10^{-4}$ pour 100.

- Une deuxième zone peut être envisagée ; elle correspond à la détermination de la valeur protectrice selon THIELE, qui se traduit par une teneur en stabilisant inhibant le changement de coloration du colloïde d'or. L'examen en microscopie électronique (cliché 7) montre que, dans le cas de l'or, le test de ZSIGMONDY modifié par THIELE, ne correspond pas à une protection totale du sol, puisque les clichés indiquent la présence de petits agglomérats. L'étude de la lumière diffusée montre d'ailleurs une variation de D , qui bien que faible, est nettement visible pendant les premières minutes de l'expérience.

ESSAIS D'INTERPRETATION QUANTITATIVE DU TEST

Compte tenu des observations que nous venons de faire, on pourrait penser à une interprétation quantitative du test proposé.

I. - INDICE DE STABILISATION

Nous avons noté que lorsque l'indice diffusimétrique D restait constant dans le temps, l'observation en microscopie électronique conduisait à des sols parfaitement dispersés. Connaissant la concentration nous pourrions calculer un **indice de stabilisation** qui peut être défini comme étant la quantité de stabilisant nécessaire pour maintenir un gramme d'or ou d'argent à l'état parfaitement dispersé, en présence du chlorure de sodium.

II. — VALEUR PROTECTRICE

Il est possible de penser essayer de déterminer une valeur protectrice en se référant à THIELE.

Pour cela on évalue, dans le cas de l'or, à quelle variation de D correspond le changement de coloration du colloïde d'or. Cette variation est assez reproductible quel que soit le stabilisant étudié. Cependant les résultats ne conduisent qu'à un ordre de grandeur et non pas à une valeur bien définie, parce que, dès que l'on atteint la zone de stabilisation, les courbes sont très proches les unes des autres alors que les concentrations varient parfois de un à dix.

D'autre part, dans l'étude du colloïde de bromure d'argent, l'instabilité du témoin peut introduire en outre des erreurs notables dans la détermination de la valeur protectrice.

Cependant, ce test donne un ordre de grandeur de la stabilisation ; par exemple, les courbes relatives à la stabilisation des colloïdes minéraux par le dextran indiquent que, malgré les concentrations importantes de l'ordre de un pour 100, D varie énormément et qu'aucune zone de stabilisation n'est atteinte. Si on travaille avec des teneurs en dextran supérieures à un pour 100, l'intensité diffusée par la macromolécule n'est plus négligeable, provoquant des interférences avec la diffusion du colloïde.

Dans le cas du dextran, le phénomène de stabilisation doit être différent de ce qu'il est dans le cas de la P.V.P. et de la gélatine.

CONCLUSION

Le test que nous venons d'exposer permet une étude progressive de la floculation reflétant l'évolution de la stabilisation en fonction de la concentration en stabilisant.

- La comparaison avec le test de ZSIGMONDY modifié par THIELE dans le cas du colloïde d'or, et son étude simultanée en microscopie électronique nous ont amenés à conclure ce qui suit : si la détermination usuelle de la valeur protectrice est le reflet d'une stabilisation de la coloration du sol, il est bien certain que cette valeur ne correspond pas à un sol parfaitement dispersé et par là même fondamentalement stable.

Il faudra pour obtenir un sol parfaitement dispersé, atteindre des concentrations plus élevées en stabilisant, qui permettront dans certains cas de conduire à la détermination d'un indice de stabilisation.

- Il faut cependant souligner que dans le cas du colloïde d'or l'application de ce test est moins facile que celle du test de ZSIGMONDY qui permet d'autre part d'avoir une meilleure sensibilité.

Par contre il sera intéressant de faire appel à ce nouveau test dans le cas de colloïdes comme celui du bromure d'argent pour lesquels la technique de ZSIGMONDY n'est pas applicable.

- Ce test permet aussi une comparaison directe de l'évolution des colloïdes minéraux vis-à-vis d'un même stabilisant d'une part, et vis-à-vis de stabilisants différents d'autre part.

**ETUDE DE QUELQUES FACTEURS
STERIQUES DE LA STABILISATION**

CHAPITRE VI

FACTEURS STERIQUES

Comme nous l'avons vu, les molécules d'un polymère peuvent intervenir à la surface des particules colloïdales, soit pour protéger le colloïde, soit au contraire pour le sensibiliser ou le flocculer.

Parmi les différents mécanismes que l'on peut invoquer pour expliquer ces effets, le processus stérique devient semble-t-il vite prédominant dès que la force ionique est tant soit peu importante, et noie donc, tout au moins en majeure partie, les effets électrostatiques dûs aux charges des particules.

D'après la théorie DLVO, dans l'approximation des bas potentiels, LYKLEMA chiffre à 10 Angstroms l'épaisseur de la double couche d'une surface plane mise au contact d'une solution aqueuse 10^{-1} M d'un sel monovalent. Les tests de stabilité que nous avons envisagés mettent en jeu des forces ioniques de cet ordre. Les polymères, même de masses relativement faibles, ont donc des dimensions bien supérieures à celles de la double couche.

- Deux facteurs seront essentiels dans la stabilisation stérique :

- La densité du nuage macromoléculaire et par conséquent la concentration relative des éléments du système.

- Les caractéristiques géométriques du stabilisant et en particulier sa masse moléculaire.

A ces facteurs que nous allons successivement envisager, s'ajoutent bien entendu, la nature de la macromolécule et celle de la particule hydrophobe que nous discuterons ultérieurement et qui conditionnent leur possibilité de liaison. Mais c'est là un élément spécifique qui, à l'inverse des facteurs précédents, ne peut se prêter à une généralisation.

EFFET DE LA CONCENTRATION

I. - ETUDE DU COLLOÏDE DE BROMURE D'ARGENT

1) Conditions expérimentales

a) Gélatine — bromure d'argent

Nous avons choisi pour cette étude des gélatines dégradées thermiquement, ainsi qu'une gélatine non dégradée G_0 . Les masses moléculaires de ces gélatines ont été déterminées par diffusion lumineuse et ont des valeurs comprises entre 170 000 et 1 320 000. Les teneurs en gélatine dans le mélange stabilisant varient de $9,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100 à $5,45 \cdot 10^{-1}$ pour 100.

b) Dextran — bromure d'argent

Les échantillons de dextran employés (D_{20} — D_{80} — D_{500}) dans cette série d'expériences ont des masses moléculaires en poids déterminées par diffusion lumineuse respectivement de 21 800, 72 000 et 370 000. Les teneurs en macromolécule stabilisante dans le mélange colloïde protecteur — bromure d'argent varient de $9 \cdot 10^{-5}$ pour 100 à 1 pour 100.

c) P.V.P. — bromure d'argent

Les échantillons de polyvinyl-pyrrolidone ayant fait l'objet de cette étude sont les P.V.P. K_{26} — K_{30} — K_{90} de masses moléculaires 67 000, 82 000 et 1 225 000. La concentration en P.V.P. dans le système étudié varie de $9 \cdot 10^{-5}$ pour 100 à $1,6 \cdot 10^{-3}$ pour 100.

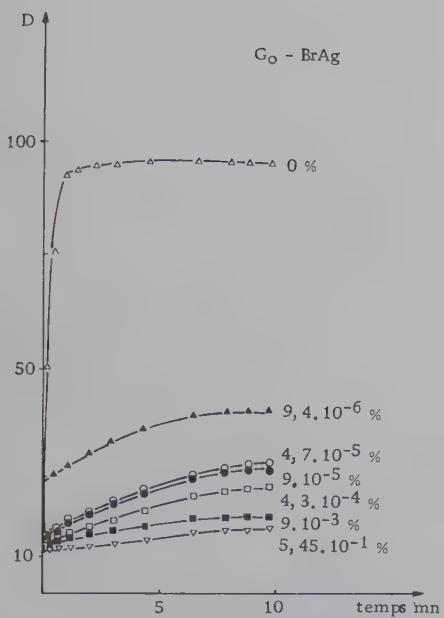


Fig. 20

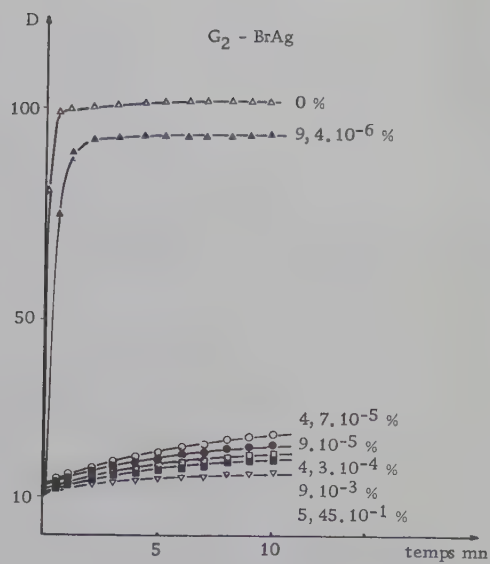


Fig. 21

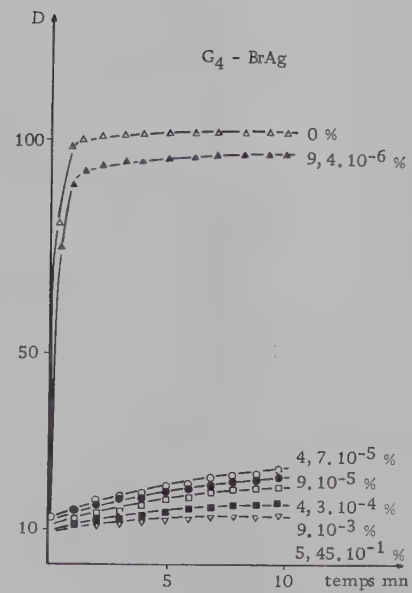


Fig. 22

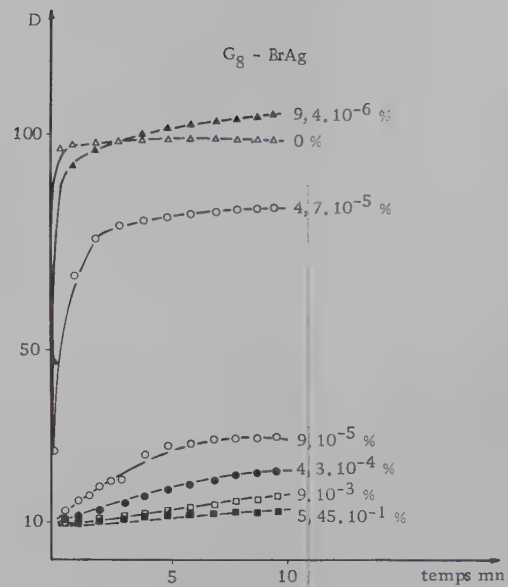


Fig. 23

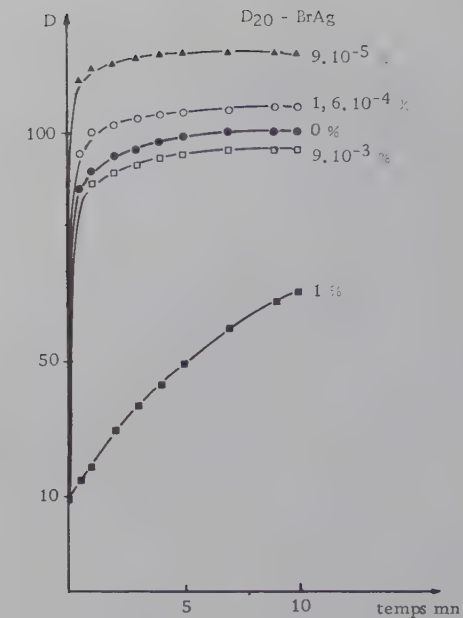


Fig. 24

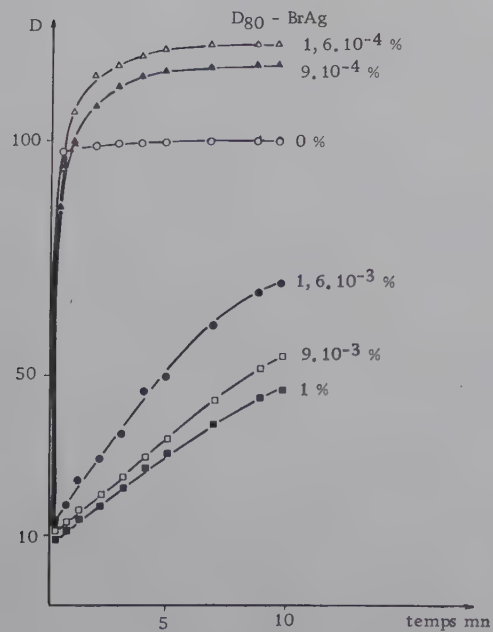


Fig. 25

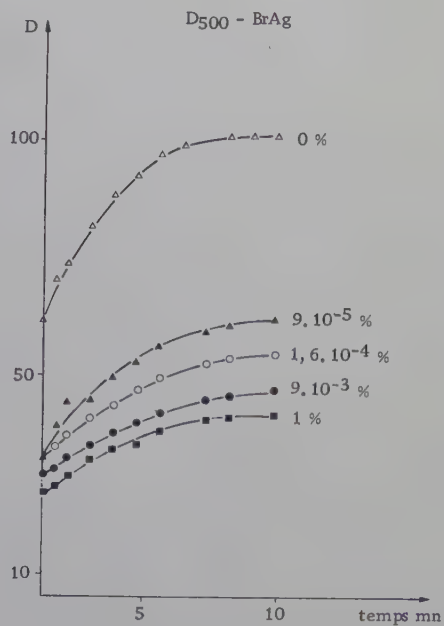


Fig. 26

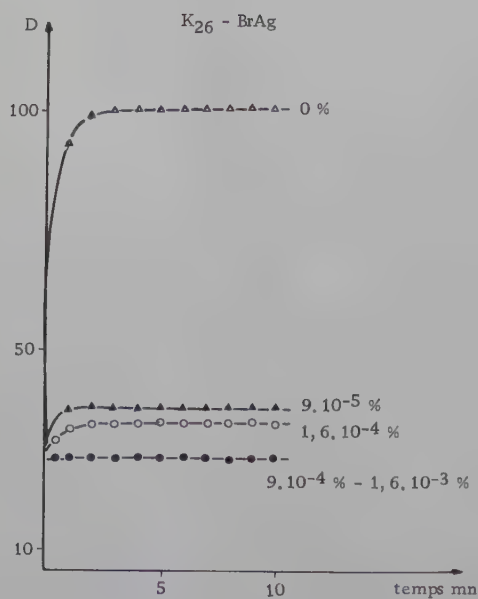


Fig. 27

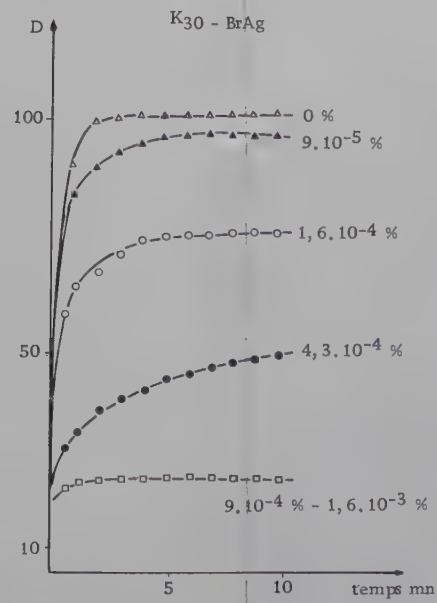


Fig. 28

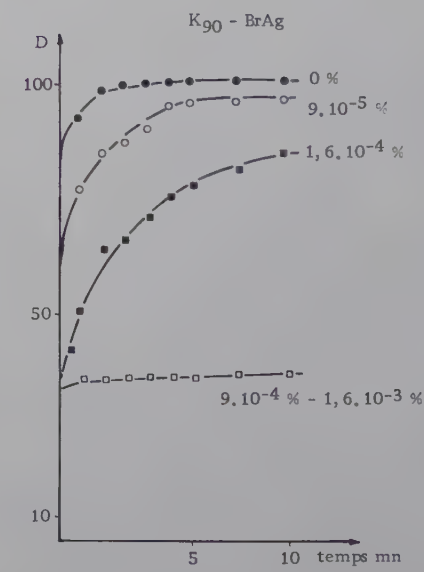


Fig. 29

Variations de l'indice diffusimétrique D du colloïde de bromure d'argent en fonction du temps d'observation en minutes

2) Résultats

Sur les graphiques (20 à 29) nous avons porté les variations de l'indice diffusimétrique D du colloïde en fonction du temps d'observation exprimé en minutes.

Les courbes obtenues rendent compte, de l'évolution du sol en présence d'un électrolyte ; elles s'étagent les unes au-dessus des autres, dans l'ordre des concentrations décroissantes en stabilisant.

L'examen de ces courbes montre que l'effet de la concentration est très important jusqu'à ce que l'on atteigne le domaine de stabilisation correspondant à la valeur protectrice proposée par THIELE. De très faibles écarts de la concentration provoquent des variations très grandes dans la valeur de l'indice diffusimétrique D .

Par exemple dans le cas de la gélatine G_2 pour une variation de la concentration de $9,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100 à $4,7 \cdot 10^{-5}$ pour 100, nous avons une variation de D de 65 (figure 21).

Dans la zone de stabilisation, pour une variation de la concentration de $9 \cdot 10^{-5}$ pour 100 à 10^{-1} pour 100 c'est-à-dire de 1 à 5000, la variation de D est de 8.

Nous retrouvons des résultats analogues avec la P.V.P. Pour le dextran par contre, nous n'atteignons pas la zone de stabilisation pour les concentrations en dextran utilisées.

II. — ETUDE DU COLLOÏDE D'OR

1) Conditions expérimentales

a) Gélatine — or

Les gélatines utilisées dans cette étude sont identiques à celles mises en jeu dans le cas du bromure d'argent. Les teneurs en gélatine dans le mélange stabilisant-colloïde varient de $4,9 \cdot 10^{-7}$ pour 100 à 1 pour 100.

b) Dextran — or

Les concentrations en dextran 20, 80 et 500 dans le mélange colloïde protecteur colloïde minéral varient de $9,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100 à 1 pour 100.

c) P.V.P. — or

Les échantillons de P.V.P. sont les $K_{26} - K_{30} - K_{90}$ et la teneur en macromolécule stabilisante dans le système considéré varie de $9 \cdot 10^{-5}$ pour 100 à 1 pour 100.

2) Résultats

Comme dans le cas du bromure d'argent nous avons porté sur les graphiques (30 à 39) les variations de l'indice diffusimétrique par le colloïde en fonction du temps d'observation. Les courbes pour chaque échantillon s'étagent les unes au-dessus des autres dans l'ordre des concentrations décroissantes en stabilisant.

Comme dans le cas du bromure d'argent on peut noter ici aussi, que l'effet de la concentration est très sensible tant que nous sommes en dehors du domaine de stabilisation du colloïde selon THIELE ; en dessous de cette limite, l'effet de la concentration est moins net.

On peut remarquer que dans le cas de ce colloïde, on atteint le domaine de stabilisation avec les trois stabilisants.

EFFET DE LA MASSE MOLECULAIRE

Nous avons, dans ce paragraphe, essayé d'évaluer l'influence de la masse moléculaire des stabilisants sur la protection des colloïdes d'argent et d'or.

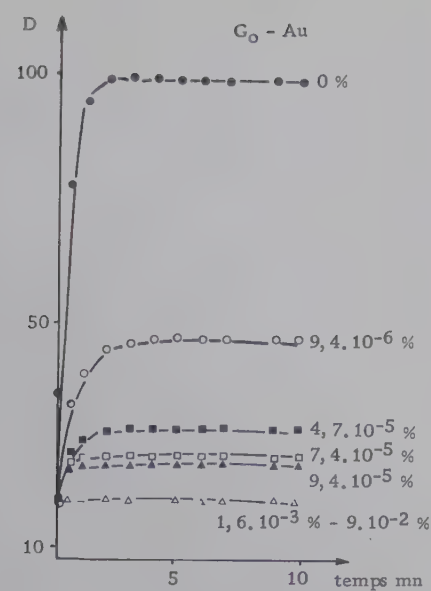


Fig. 30

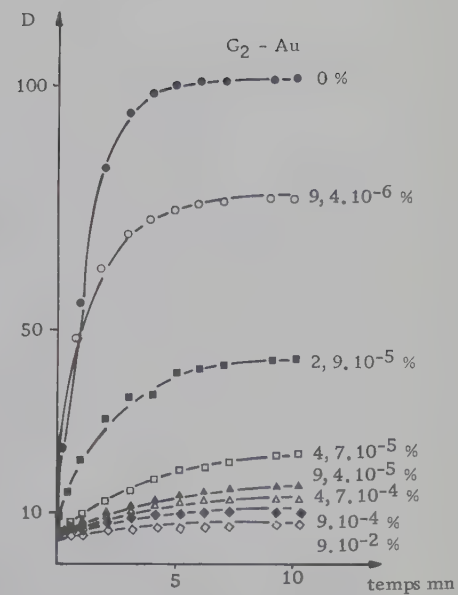


Fig. 31

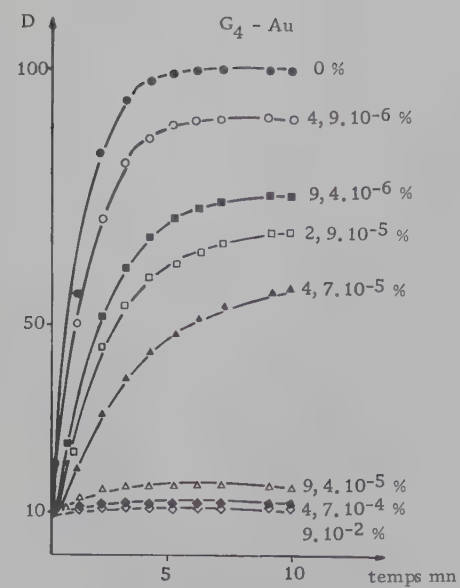


Fig. 32

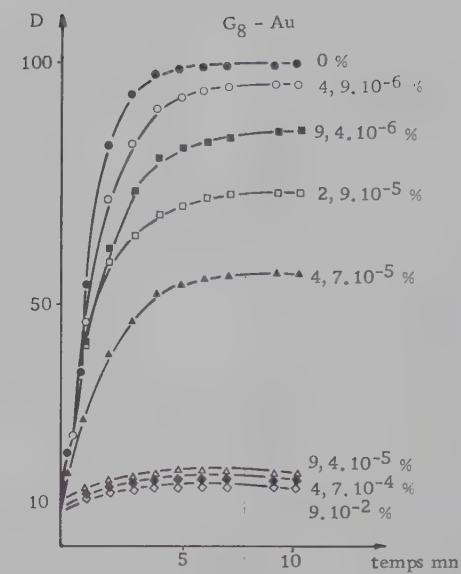


Fig. 33

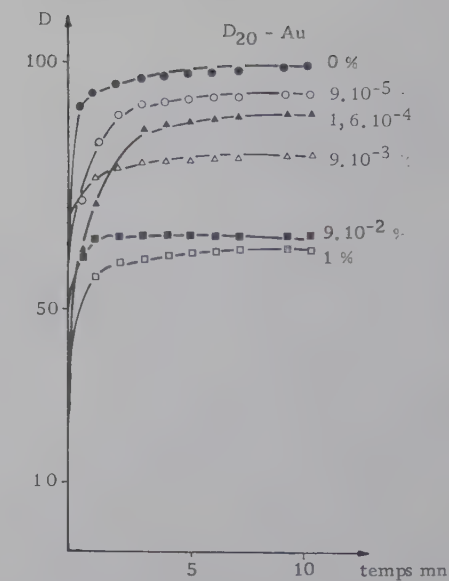


Fig. 34

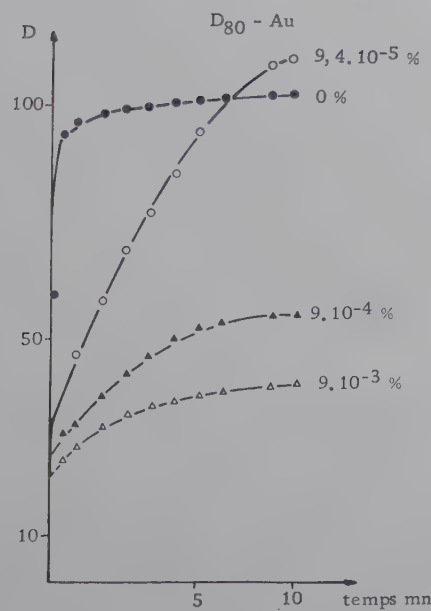


Fig. 35

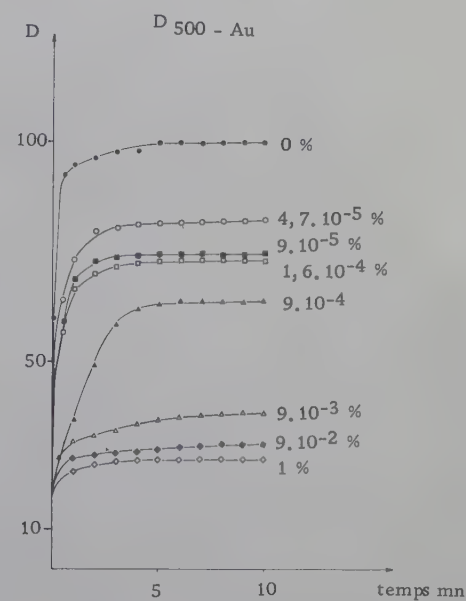


Fig. 36

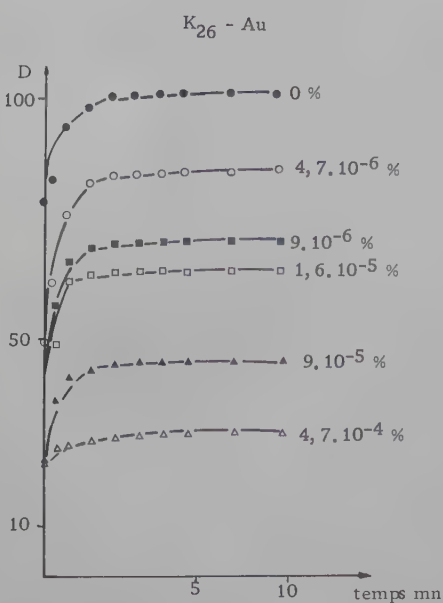


Fig. 37

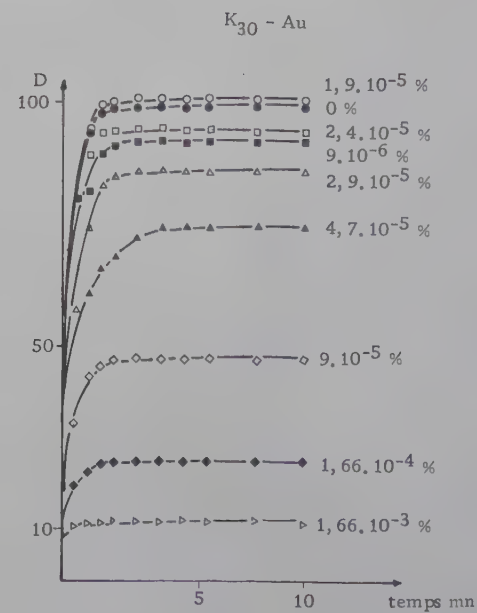


Fig. 38

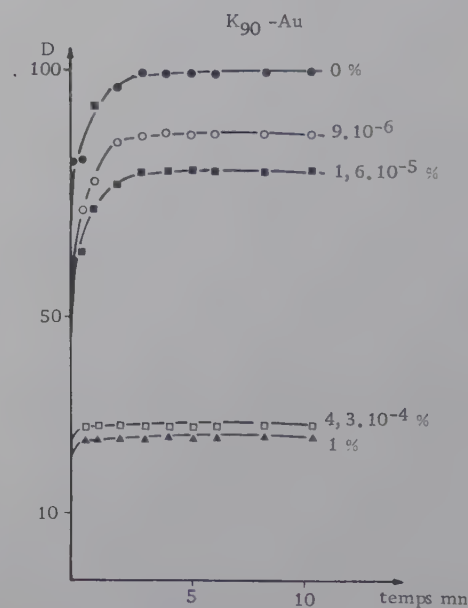


Fig. 39

Variations de l'indice diffusimétrique D du colloïde d'or en fonction du temps d'observation en minutes

Pour ce faire, nous avons choisi, pour chaque groupe de système or-gélatine par exemple, une concentration qui, d'après les résultats précédents, nous a semblé donner la variation la plus sensible avec la masse moléculaire. Il nous a paru utile de ne pas utiliser les valeurs obtenues dans les expériences précédentes, mais de faire une nouvelle série d'expériences afin de pouvoir comparer les résultats obtenus dans des conditions expérimentales rigoureusement identiques, ce qui est un élément important en physico-chimie colloïdale.

I. – ETUDE DU COLLOÏDE DE BROMURE D'ARGENT

1) Conditions expérimentales

a) Gélatine – bromure d'argent

Dans cette série d'expériences, nous avons travaillé avec quatre gélatines dont les masses moléculaires déterminées par diffusion lumineuse sont portées dans le tableau ci-dessous :

Stabilisant	Masse moléculaire Mw
G ₀	1 320 000
G ₂	440 000
G ₄	350 000
G ₈	293 000

Tableau 6 : Masses moléculaires en poids des échantillons de gélatine utilisés dans cette expérience.

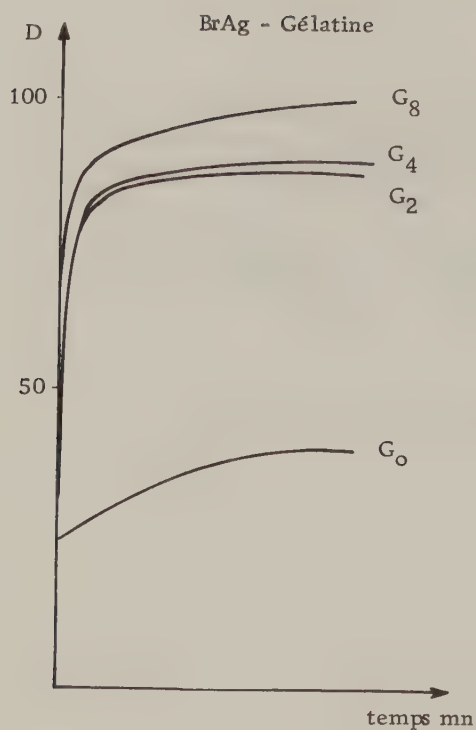


Fig. 40

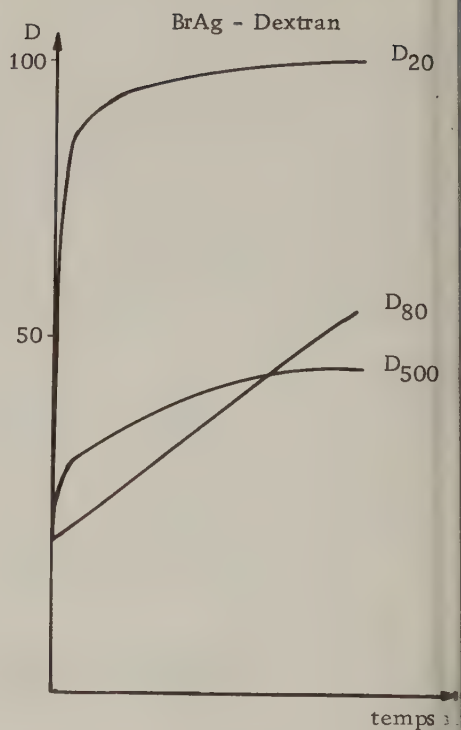


Fig. 41

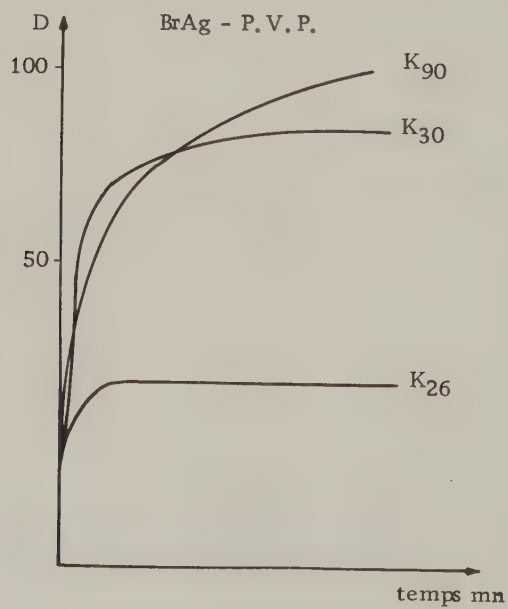


Fig. 42

Variations de l'indice diffusimétrique D d'un colloïde de bromure d'argent protégé par une même quantité de stabilisants de masses moléculaires différentes.

b) Dextran – bromure d'argent

Dans le tableau 7 nous avons transcrit les masses moléculaires des échantillons de dextran utilisés.

Stabilisant	Masse moléculaire Mw
D ₅₀₀	370 000
D ₈₀	72 000
D ₂₀	21 800

Tableau 7 : Masses moléculaires moyennes en poids des échantillons de dextran.

c) P.V.P. – bromure d'argent

Le tableau 8 indique les masses moléculaires des échantillons de P.V.P. ayant fait l'objet de ce travail.

Stabilisant	Masse moléculaire Mw
K ₉₀	1 225 000
K ₃₀	82 000
K ₂₆	67 000

Tableau 8 : Masses moléculaires en poids des divers échantillons de P.V.P.

2) Résultats

Sur les graphiques 40 – 41 – 42 nous avons tracé l'évolution des colloïdes protégés de l'action floculante du chlorure de sodium par une même quantité de stabilisant de masses moléculaires différentes.

Dans le tableau 9 ci-après nous avons porté les valeurs de D correspondant aux échantillons étudiés.

Stabilisant étudié	Masses moléculaires Mw	Teneur en stabilisant pour 100	D
G ₀	1 320 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	40
G ₂	440 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	87
G ₄	350 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	88
G ₈	293 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	98
D ₅₀₀	370 000	$9 \cdot 10^{-3}$	45
D ₈₀	72 000	$9 \cdot 10^{-3}$	52,5
D ₂₀	21 800	$9 \cdot 10^{-3}$	96
K ₉₀	1 225 000	$1,6 \cdot 10^{-4}$	88
K ₃₀	82 000	$1,6 \cdot 10^{-4}$	74
K ₂₆	67 000	$1,6 \cdot 10^{-4}$	32

Tableau 9 : Variations de l'indice diffusimétrique D pour un colloïde de bromure d'argent stabilisé par une même concentration de macromolécules de masses moléculaires différentes, ceci pour chaque stabilisant.

D'après ce tableau et si nous examinons les courbes précédemment décrites lors de l'étude de la concentration, il est aisé de voir que pour une teneur en stabilisant de $9,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100 dans le mélange réactionnel, la gélatine mère G_0 stabilise mieux que les gélatines dégradées G_2 , G_4 et G_8 . Pour une teneur en gélatine de $4,7 \cdot 10^{-5}$ pour 100, ces courbes montrent que la gélatine G_8 protège moins bien le colloïde de bromure d'argent que les autres gélatines.

Pour le dextran, l'allure des courbes montre en premier lieu, que même pour une teneur élevée de 1 pour 100 dans le mélange réactionnel, le colloïde de bromure d'argent n'est absolument pas stabilisé quelle que soit la masse moléculaire mise en jeu. Pour des concentrations en dextran de $9 \cdot 10^{-3}$ pour 100 et même de 1 pour 100, il faut noter que le dextran 20 protège moins bien le colloïde de bromure d'argent que le dextran 80 et à plus forte raison le dextran 500.

— Les graphiques relatifs à l'influence de la concentration de la P.V.P. sur la stabilisation du bromure d'argent conduisent aux observations suivantes :

Pour une même teneur en P.V.P. de $9 \cdot 10^{-5}$ pour 100, les P.V.P. K_{30} et K_{90} ne stabilisent absolument pas le bromure d'argent, alors que la P.V.P. K_{26} protège déjà le colloïde. Pour des concentrations de l'ordre de $1,6 \cdot 10^{-4}$ pour 100, le colloïde de bromure d'argent est mieux protégé par la P.V.P. K_{30} que par la P.V.P. K_{90} sans être toutefois stabilisé alors que la P.V.P. K_{26} , à cette même concentration, permet d'obtenir une stabilisation presque parfaite.

Pour des teneurs en P.V.P. de $9 \cdot 10^{-4}$ pour 100, le colloïde est protégé dans tous les cas, quelle que soit la P.V.P. utilisée.

II. — ETUDE DU COLLOÏDE D'OR

1) Conditions expérimentales

a) Gélatine — or

Les échantillons étudiés sont identiques à ceux utilisés dans le cas du bromure d'argent.

La concentration en gélatine dans le mélange réactionnel est, dans ce cas, de $9,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100.

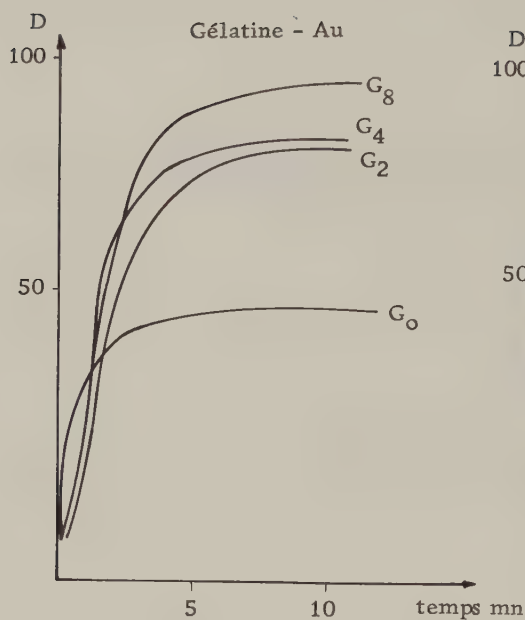


Fig. 43

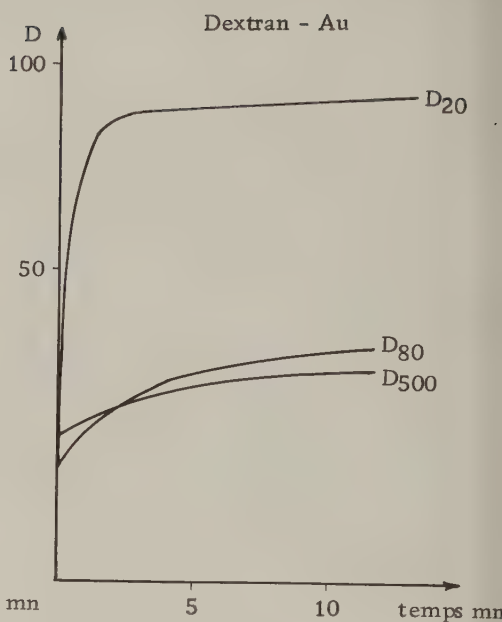


Fig. 44

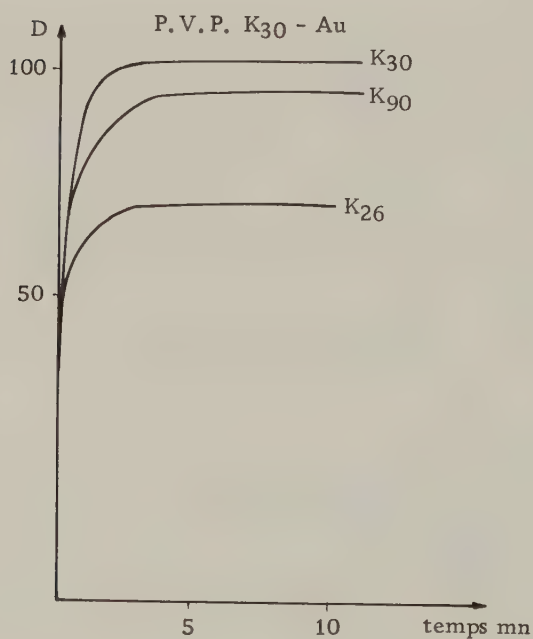


Fig. 45 - Influence masse moléculaire

Variations de l'indice diffusimétrique D d'un colloïde d'or protégé par une même quantité de stabilisants de masses moléculaires différentes.

b) Dextran — or

La teneur en dextran est de $9 \cdot 10^{-3}$ pour 100 comme dans l'expérience antérieure correspondante.

c) P.V.P. — or

Dans le cas de la P.V.P. la teneur en macromolécule stabilisante dans le milieu réactionnel est de $9 \cdot 10^{-6}$ pour 100.

2) Résultats

Sur les graphiques (43 — 44 — 45) nous avons tracé les résultats obtenus pour un colloïde d'or protégé par des stabilisants de masses moléculaires différentes.

Sur le tableau 10 ci-dessous nous avons transcrit les valeurs de D observées au bout de dix minutes pour les divers systèmes.

Stabilisant	Masses moléculaires Mw	Teneur en stabilisant dans le mélange réactionnel pour 100	D
G ₀	1 320 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	46
G ₂	440 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	76
G ₄	350 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	75
G ₈	293 000	$9,4 \cdot 10^{-6}$	85
D ₅₀₀	370 000	$9 \cdot 10^{-3}$	36
D ₈₀	72 000	$9 \cdot 10^{-3}$	40
D ₂₀	21 800	$9 \cdot 10^{-3}$	80
K ₉₀	1 225 000	$9 \cdot 10^{-6}$	87
K ₃₀	82 000	$9 \cdot 10^{-6}$	93,5
K ₂₆	67 000	$9 \cdot 10^{-6}$	80

Tableau 10 : Variations de l'indice diffusimétrique D pour un colloïde d'or stabilisé par une même concentration de macromolécules de stabilisant de masses moléculaires différentes.

• Comme en ce qui concerne le bromure d'argent, nous discuterons à la fois, à partir des résultats portés dans ce tableau et obtenus pour une seule concentration d'un stabilisant donné, et sur les courbes relatives à l'effet de la concentration.

• Si nous comparons les **gélatines** G_0 G_2 G_4 et G_8 nous retrouvons avec le colloïde d'or un comportement comparable à celui obtenu avec le bromure d'argent, à savoir :
que pour une concentration en gélatine de $9,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100 la gélatine G_0 stabilise mieux que les gélatines G_2 G_4 G_8 .

Les gélatines G_4 et G_8 à des concentrations de $4,7 \cdot 10^{-5}$ pour 100 ne protègent pas le colloïde d'or et on observe à peu près une même variation de l'intensité diffusée. Les gélatines G_0 et G_2 à concentrations identiques ont un comportement comparable entre elles, et sont proches de la zone de stabilisation.

Les clichés relatifs à l'étude de l'influence de la concentration en **dextran** sur le colloïde d'or indiquent à première vue que le dextran ne permet pas une bonne stabilisation de l'or ; pour une teneur en dextran de $9 \cdot 10^{-3}$ pour 100, le dextran 20 protège nullement l'or, les dextrans 80 et 500 provoquent une variation de l'indice diffusimétrique comparable.

L'évolution du colloïde d'or en fonction de la concentration en P.V.P. montre que pour des concentrations en P.V.P. de $9 \cdot 10^{-6}$ pour 100, la P.V.P. K_{26} protège mieux le colloïde d'or que les P.V.P. K_{30} et K_{90} .

Par contre nous pouvons noter que la stabilisation est obtenue dans le cas des P.V.P. K_{90} et K_{26} pour des concentrations pratiquement identiques de $4,7 \cdot 10^{-4}$ pour 100 pour K_{26} et $4,3 \cdot 10^{-4}$ pour 100 pour K_{90} ; pour une variation comparable de l'intensité diffusée, il faut une teneur plus faible en P.V.P. K_{30} ($1,66 \cdot 10^{-4}$ pour 100) ce qui indiquerait que la P.V.P. K_{30} stabilise mieux l'or que la P.V.P. K_{26} ou K_{90} .

III. — ANALYSE DES RESULTATS

Il ressort de ces observations que pour une concentration donnée, choisie arbitrairement loin de la zone de stabilisation du colloïde étudié, l'indice diffusimétrique varie en fonction de la masse moléculaire du stabilisant ajouté. Pour les concentrations choisies et dans les limites de précision de la méthode, nous voyons que quel que soit le colloïde étudié, la gélatine G_0 stabilise mieux que la G_2 ; cette dernière a une action protectrice supérieure à celle de la G_4 qui elle-même stabilise mieux que la G_8 . Une évolution comparable est observée avec le dextran, ce qui nous permet de classer les dextrans étudiés dans l'ordre croissant de stabilisation de la façon suivante :

$$D_{500} \quad D_{80} \quad D_{20}$$

Dans les deux cas, gélatine et dextran, la faculté de protection va donc en augmentant avec la masse moléculaire du stabilisant. La polyvinyl-pyrrolidone conduit à des résultats particuliers, à savoir que la P.V.P. de faible masse moléculaire stabilise mieux le bromure d'argent que la P.V.P. K_{90} conduisant au classement suivant :

$$P.V.P. K_{26} \quad P.V.P. K_{30} \quad P.V.P. K_{90}$$

Dans le cas du colloïde d'or, nous avons, de plus, appliqué le test de ZSIGMONDY modifié par THIELE afin de vérifier l'influence de la masse moléculaire sur la valeur protectrice. Les résultats obtenus sont portés dans les tableaux 11 — 12 — 13.

Stabilisant : gélatine	Masse moléculaire moyenne en poids Mw	Valeur protectrice
G ₁₇	170 000	75
G ₈	293 000	150
G ₆	332 000	150
G ₄	350 000	200
G ₂	430 000	240
G _{0,3}	655 000	300
G ₀	1 320 000	300

Tableau 11 : Variations de la valeur protectrice de la gélatine centrifugée en fonction des masses moléculaires.

Stabilisant : dextran	Masse moléculaire moyenne en poids Mw	Valeur protectrice
20	21 800	0,009
40	40 000	0,010
80	72 000	0,012
110	100 500	0,015
250	264 000	0,024
500	370 000	0,034

Tableau 12 : Variations de la valeur protectrice du dextran en fonction des masses moléculaires.

Stabilisant : P.V.P.	Masse moléculaire moyenne en poids Mw	Valeur protectrice
K ₁₅	32 680	24
K ₂₆	67 000	30
K ₃₀	82 000	48
K ₆₀	490 000	32,5
K ₉₀	1 225 000	24

Tableau 13 : Variations de la valeur protectrice de la P.V.P. en fonction des masses moléculaires.

• Ces nouvelles déterminations effectuées avec le colloïde d'or nous donnent bien une même évolution de la stabilisation en fonction des masses moléculaires ; pour la gélatine et le dextran, la stabilisation croît avec la masse moléculaire, et pour la P.V.P., nous trouvons un maximum de stabilisation pour la P.V.P. K₃₀ qui a une masse moléculaire moyenne en poids de 82 000.

EFFET DE LA DIMENSION MICELLAIRE

Dans une autre série d'expériences nous avons essayé de déterminer l'importance relative des dimensions des deux constituants mis en jeu. Pour cela nous avons étudié l'effet de la dimension micellaire du colloïde d'or sur la valeur protectrice de la gélatine et la P.V.P. Ces deux stabilisants présentent la meilleure valeur protectrice. Dans ce cas nous avons employé le test de THIELE.

I. - GELATINE - OR

1) Conditions expérimentales

Dans ces expériences, la gélatine n'a pas été centrifugée comme lors des autres déterminations de la valeur protectrice de la gélatine. Le temps de contact entre le colloïde et le stabilisant est toujours de trente minutes avant l'introduction de l'électrolyte.

2) Résultats

Les résultats, obtenus avec une gélatine non dégradée de masse moléculaire $M_w = 1\,320\,000$, et avec un échantillon de gélatine dégradée deux heures de masse moléculaire $M_w = 430\,000$, pour les dimensions micellaires comprises entre 20 nm et 180 nm, sont portés dans le tableau 14.

Dimension de la micelle colloïdale nm	Gélatine M_w	Valeur protectrice
20	1 320 000	120
31		120
37		120
39		120
40		120
57		120
100		120
180		120
30	430 000	93
40		93
45		93
50		93
60		93
68		93
180		93

Tableau 14 : Influence de la dimension micellaire sur la valeur protectrice de la gélatine.

II. - P.V.P. - OR

1) Conditions expérimentales

Les échantillons de P.V.P. ayant fait l'objet de cette étude sont la P.V.P. K₃₀ et K₉₀ dont la masse moléculaire moyenne en poids est respectivement 82 000 et 1 225 000.

2) Résultats

Dans le tableau 15 nous avons retranscrit les résultats obtenus.

Dimension de la micelle colloïdale nm	P.V.P. Mw	Valeur protectrice
50	82 000	48
60		48
180		48
60	1 225 000	24
69		24
70		24
180		24

Tableau 15 : Influence de la dimension micellaire du colloïde d'or sur la valeur protectrice de la P.V.P.

Compte tenu des résultats, il nous a semblé inutile dans ces conditions d'appliquer notre test.

DISCUSSION

Il ressort des expériences mettant en jeu les masses moléculaires des échantillons étudiés, que d'une manière générale, exception faite pour la P.V.P., les stabilisants de hauts poids moléculaires sont plus efficaces que ceux de faibles poids moléculaires.

Dans l'étude du système **or — gélatine**, la valeur protectrice croît très rapidement dans la zone des masses moléculaires comprises entre 170 000 et 430 000, ensuite elle tend vers une valeur limite. Nous trouvons une évolution analogue pour les systèmes **bromure d'argent — gélatine**. Des résultats comparables sont fréquemment obtenus dans les expériences mettant en jeu des phénomènes d'adsorption.

BONTOUX et HURBIN (54), étudiant le système gélatine — colloïde d'aluminium, observent que la quantité de gélatine fixée sur le colloïde est une fonction croissante de la masse moléculaire.

HELLER et PUGH (52) trouvent une amélioration dans la stabilisation du colloïde d'or, lorsque la masse moléculaire du polyéthylène-glycol passe de 600 à 30 000.

HAMDY et coll. (49) ont étudié la relation existant entre le nombre d'or défini par ZSIGMONDY et la masse moléculaire de divers échantillons de **dextran** obtenus à partir du « *Leuconostoc Mesenteroïdes* » B 512 par dégradation acide ou enzymatique. La masse moléculaire des échantillons est déduite des mesures de viscosité (119). Ils ont trouvé que le nombre d'or était différent pour des échantillons dont la viscosité intrinsèque et par là même la masse moléculaire était différente et que la protection était d'autant meilleure que la masse moléculaire de l'échantillon était élevée.

CURME et NATALE (28) par ailleurs, trouvent que pour le système gélatine — bromure d'argent, la quantité de gélatine adsorbée augmente lorsque la masse moléculaire de celle-ci passe de 80 000 à 450 000.

Par contre, nos résultats expérimentaux montrent que le système **polyvinyl pyrrolidone — argent** ou **polyvinyl pyrrolidone — or** a un comportement totalement différent des précédents ; en effet, les colloïdes minéraux sont beaucoup plus stables en présence de P.V.P. de faible masse moléculaire.

En terminant cette discussion, il convient de faire une remarque importante :

- La valeur protectrice n'est pas le reflet exact d'une insensibilité totale des micelles à l'action des électrolytes. Lors de l'observation en microscopie électronique, les micelles d'or sont vraiment bien isolées pour des teneurs en gélatine bien supérieures à celles correspondant à la valeur protectrice (de l'ordre de $9 \cdot 10^{-3}$ pour 100 au lieu de $7,4 \cdot 10^{-6}$ pour 100 pour la gélatine mère par exemple).

- Compte tenu de ces observations, si nous considérons que le colloïde minéral est stable en présence d'électrolyte, non plus en nous fiant à la coloration rouge du sol qui peut contenir des petits agrégats de deux ou trois particules comme l'indique le cliché (7) mais en nous rapportant à des valeurs de D pratiquement constantes après introduction de l'électrolyte, nous notons que la quantité de gélatine est à peu près la même quelle que soit la masse moléculaire de l'échantillon mis en jeu.

Il faudrait peut être travailler avec des stabilisants dont les masses moléculaires se situent aux alentours de 10^7 ou 10^8 pour observer un effet vraiment important de la longueur de la chaîne.

Ainsi, dans le domaine de masses étudié, l'effet de la masse moléculaire semble très net pour les stabilisations partielles mais beaucoup moins net si l'on recherche une stabilisation totale.

- Une stabilisation partielle est une stabilisation d'agrégats. La présence de longues chaînes semble donc permettre, dans une certaine mesure, l'existence d'associations particulières relativement stables de dimensions limitées. Avec des masses inférieures par contre, l'agglomération conduit immédiatement à la floculation totale.

- L'addition d'électrolytes, base des tests de floculation, minimise les effets des forces de COULOMB et permet l'action des forces de VAN DER WAALS lors des collisions interparticulaires. La présence de quelques pontages formés par les macromolécules de masses moléculaires élevées doit prévenir le rapprochement des micelles minérales dans le rayon d'action des forces de VAN DER WAALS qui est extrêmement court (50). Il y a aggrégation mais certainement plus lâche et plus limitée que lorsque agissent seulement des stabilisants de bas poids moléculaires.

- Lorsque la quantité de stabilisant augmente dans le milieu, la couverture des grains minéraux augmente également. Une couronne efficace se crée, dont l'épaisseur doit être surtout fonction de la distance entre les sites actifs sur la chaîne polymérique. Cette couronne prévient tout contact direct entre les noyaux hydrophobes. La masse moléculaire a alors peu d'effets.

Ce raisonnement n'est pas valable dans le cas de la P.V.P. où l'on note une évolution inverse de l'effet stabilisant avec la masse moléculaire. Cela conduit à penser qu'à côté de la masse moléculaire un des paramètres les plus importants intervenant dans la stabilisation, est la configuration de la molécule stabilisante et la façon dont elle se fixe sur le colloïde minéral.

**MISE EN EVIDENCE DE LA COUCHE
PROTECTRICE**

CHAPITRE VII

MISE EN EVIDENCE DE LA COUCHE PROTECTRICE

Les expériences précédentes ne sont qu'un premier aspect de notre étude et conduisent à la recherche d'une caractérisation plus fine de la couche protectrice autour du colloïde minéral.

L'évaluation de l'épaisseur de cette couche organique a donné lieu à beaucoup d'hypothèses, mais il n'a pas été possible, à notre connaissance, d'en déterminer directement la valeur. Cela tient à la nature hétérogène d'une micelle minérale stabilisée et au fait que les méthodes usuelles ne peuvent s'adapter en même temps aux deux constituants du système.

Pour aborder cette étude nous avons fait appel à des macromolécules marquées ; les techniques radio-actives mises en jeu dans ces conditions, présentent le grand avantage d'avoir une haute sensibilité de détection. Il sera donc possible dans ces conditions, en utilisant une méthode de séparation appropriée (chromatographies sur gel poreux, de partage en couche mince, centrifugation), de déterminer s'il y a liaison totale ou non de la macromolécule stabilisante sur le noyau métallique du colloïde minéral.

Nous avons essayé ensuite de contrôler la présence de cette couche protectrice par microscopie électronique.

OBTENTION ET PURIFICATION DES MACROMOLECULES MARQUEES

Les macromolécules marquées par des radio éléments que nous avons utilisées dans les expériences ultérieures sont d'une part du dextran et d'autre part de la gélatine. L'obtention ainsi que la purification éventuelle de ces produits font l'objet de ce chapitre.

I. - LE DEXTRAN

1) Le dextran *80 marqué au carbone 14 est obtenu par introduction du groupement carboxyle portant un carbone radio-actif sur la macromolécule de dextran et conduisant à la macromolécule $(C_6H_{10}O_5)_n^{14}COOH$.

L'activité spécifique de l'échantillon que nous avons utilisé est de 0,87 millicurie/gramme ; la valeur protectrice déterminée selon THIELE est de 0,024.

2) Le dextran *20 tritié selon la méthode de WILZBACH (117) présente une activité spécifique de 2 millicuries/gramme. La valeur protectrice est de 0,015.

Le dextran *80 et le dextran *20 sont commercialisés par la New England Nuclear Corp (NEN) et peuvent être utilisés tels quels sans qu'il soit nécessaire de les purifier auparavant.

II. — GELATINE

1) *Obtention*

• La gélatine tritiée fournie à notre demande est obtenue par tritiation d'une gélatine mère stable, préalablement lyophilisée afin de présenter une plus grande surface libre au tritium que la gélatine en plaque. Nous avons vérifié par ailleurs que la lyophilisation ne modifiait pas la masse moléculaire de la gélatine. Les conditions de tritiation sont les suivantes :

500 mg de gélatine sont exposés deux semaines à l'action du gaz tritium de 3 curies sous une pression de 250 mm de mercure, à une température de 26°C.

Les hydrogènes labiles sont ensuite éliminés par agitation dans 25 ml d'un solvant protonique tel que l'eau dans le cas présent.

L'activité spécifique du produit obtenu est de 126 microcuries par milligramme.

2) *Purification*

Le gaz tritium permet le marquage de nombreuses molécules organiques et biologiques ; cependant à côté de la transformation voulue et souhaitable de la liaison C — H en liaison C — T, il existe d'autres transformations qui en général conduisent à des sous-produits ; ces sous-produits sont à l'état de traces mais leur activité est environ cent fois plus grande que celle du produit que l'on désire obtenir. D'autre part, le produit initial peut être fragmenté et dégradé par l'énergie de tritiation. Il faut donc, à la fin de la tritiation, envisager la purification du produit obtenu afin d'éliminer toutes traces des produits de dégradation inhérents aux traitements subis.

Les procédés de purification sont variables selon les produits étudiés.

Dans le cas de la gélatine nous avons fait appel à la méthode de filtration sur gel poreux.

a) Conditions expérimentales

Les conditions expérimentales de la filtration sur gel poreux sont résumées dans le tableau suivant :

échantillon	gélatine tritiée
gel utilisé	G 200
lot	2208
temps gonflement heure	72
dimensions colonne mm	15 x 430
V_t ml	76
V_0 ml	15
fractions ml	3
température expérience	37°C
prise essai mg	13,4

Tableau 16 : Conditions expérimentales de filtration sur gel poreux pour la purification de la gélatine tritiée.

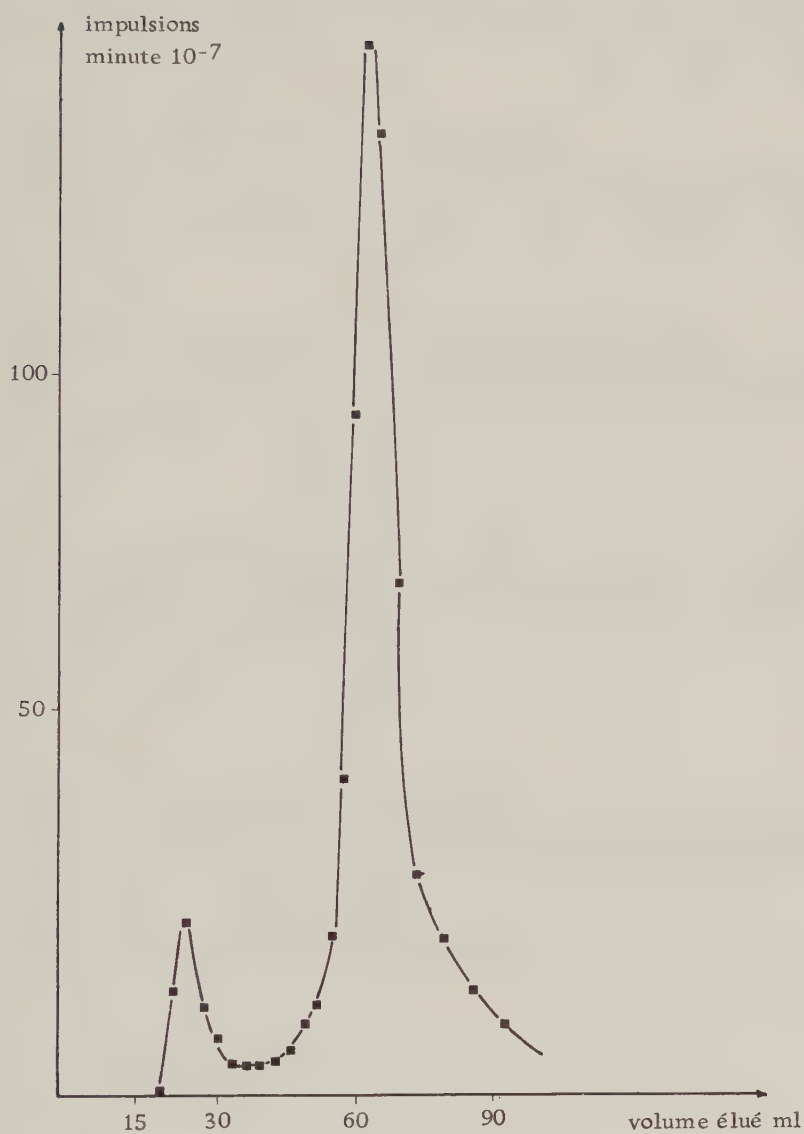


Fig. 46 - Purification par gel filtration de la gélatine tritiée

Le volume mort V_0 (volume de liquide, extérieur aux grains du support poreux, nécessaire pour véhiculer une substance – non retenue sur le support poreux – du sommet de la colonne à la base de celle-ci) est déterminé à l'aide du « Blue dextran » dont la masse moléculaire de plusieurs millions autorise l'exclusion directe.

La concentration en gélatine dans chaque fraction est obtenue par détermination de sa radio-activité à l'aide d'un spectromètre à scintillation liquide TRI-CARB PACKARD 3320.

b) Résultats

Le diagramme d'élution ainsi obtenu, est porté sur le graphique 46. Il faut noter la présence de deux pics que nous caractériserons par leur valeur de k_{av} définie de la façon suivante :

$$(19) \quad k_{av} = \frac{V_e - V_0}{V_t - V_0}$$

dans laquelle V_e est le volume d'élution de l'échantillon considéré ; V_t le volume total du lit du gel ; V_0 le volume mort déterminé à l'aide du « Blue dextran ».

Le pic 1 a un $k_{av} = 0,196$ correspondant au passage de la gélatine tritiée.

Le pic 2 ayant un k_{av} de 1,08 (caractéristique des produits adsorbés sur le gel) correspond à des impuretés radiochimiques de très petites dimensions, certainement des polypeptides provenant de la dégradation de la gélatine sous l'influence du rayonnement.

Les fractions correspondant au passage de la gélatine seront rassemblées et lyophilisées. Elles constitueront la gélatine tritiée pure qui servira dans les expériences ultérieures.

La détermination de la valeur protectrice de ces fractions conduit à une valeur de 75.

EVALUATION DE LA MASSE MOLECULAIRE DES COMPOSES MARQUES

Les techniques habituelles utilisées pour déterminer les masses moléculaires, telles que la diffusion lumineuse, ou même la pression osmotique, nécessitent des concentrations non négligeables en produit étudié.

Lors de l'emploi des radio-éléments, nous travaillons avec des quantités très faibles de produit. Dans ces conditions, les méthodes usuelles ne sont pas applicables ; nous avons donc déterminé la masse moléculaire de nos macromolécules marquées, en faisant appel à la chromatographie sur gel poreux.

Cette méthode est utilisée de façon classique mais nécessite un étalonnage préalable des colonnes avec des échantillons monodispersés. Comme dans notre étude, nous ne possédions pas de telles substances, nous avons fait appel à la méthode d'étalonnage mis au point par BONToux BALI et DAUPLAN (14), qui permet l'étalonnage des colonnes avec des échantillons polydispersés.

I. - PRINCIPE DE L'ETALONNAGE

Ce principe est basé sur les observations faites en chromatographie sur gel qui ont conduit à rechercher une relation simple entre la masse moléculaire du polymère étudié et son volume d'élution.

• L'analyse de nombreux travaux portant sur cette étude par chromatographie sur colonne de séphadex (84 - 55 - 102 - 63 - 118 - 116 - 5 - 22 - 3 - 4) montre que l'on peut écrire valablement quelles que soient les hypothèses posées sur la structure des gels, la relation suivante :

$$(20) \quad \log M_i = a - b V_e / V_0$$

M_i est la masse moléculaire des individus moléculaires d'un type monodispersé.

V_e est le volume d'élution de l'espèce i

V_0 est le volume mort de la colonne

a et b sont des constantes caractéristiques de la trame du gel et de la structure du matériau filtré.

• Lorsque l'on a un échantillon polydispersé, on peut transformer la courbe d'élution, en fonction de distribution en masses moléculaires, différentielles, comme le montrent les développements théoriques de DE VRIES (116), lorsque les colonnes ont un nombre de plateaux théoriques suffisant.

La difficulté rencontrée se situe dans la détermination des constantes numériques a et b . Le calcul numérique proposé (14) a pour but, lorsqu'on peut connaître les masses moléculaires moyennes en nombre et en poids d'un échantillon étalon, de simplifier l'étalonnage des colonnes de G P C.

• La fonction de répartition en masse moléculaire d'un échantillon doit être compatible avec les relations suivantes :

$$(21) \quad \overline{Mn} = \frac{\sum_i C_i}{\sum_i C_i / M_i}$$

$\overline{Mn}$ étant la masse moléculaire moyenne en nombre obtenue, par exemple, par mesure de la pression osmotique, ou par dosage chimique.

C_i est la concentration dans le milieu étudié de l'espèce moléculaire de masse M_i .

$$(22) \quad \overline{Mw} = \frac{\sum_i C_i M_i}{\sum_i C_i}$$

Mw étant la masse moléculaire moyenne en poids accessible par exemple par mesure de diffusion lumineuse.

$$(20) \quad \log M_i = a - b V_e / V_0$$

relation précédemment définie.

Cette fonction de répartition doit être enfin compatible avec le diagramme d'élution chromatographique, c'est-à-dire avec la relation expérimentale.

$$(23) \quad C_i = f(V_e / V_0)_i$$

A partir de ces données, obtenues pour un échantillon étalon, une programmation sur ordinateur est faite de façon à obtenir par approximations successives les valeurs a et b qui permettront grâce à l'équation (20) de transformer un diagramme d'élution (23) en une fonction de distribution de masses moléculaires.

II. - ETALONNAGE DES COLONNES

Dans le cas qui nous intéresse il faut faire un étalonnage des colonnes aptes à analyser les échantillons macromoléculaires marqués.

Pour le dextran, l'expérience nous montre que le D*20 est convenablement analysé par passage sur du sephadex G75.

Pour l'étalonnage correspondant, nous ferons appel à un échantillon de dextran 20 stable.

Le dextran 80 marqué au carbone 14 nécessite un gel beaucoup plus poreux type G₂₀₀ ; l'étalonnage de la colonne sur ce séphadex sera effectué à partir d'un échantillon de dextran 80 stable.

Quant à la gélatine tritiée analysée sur séphadex G₂₀₀ , la substance étalon utilisée sera de la gélatine G₁₇ dégradée thermiquement 17 heures. Pour conduire notre étalonnage, il est nécessaire de caractériser d'abord les échantillons étalons.

CARACTERISATION DES ECHANTILLONS ETALONS

1) Détermination des masses moléculaires en poids Mw

Nous avons fait appel pour cela à la mesure de diffusion lumineuse dont la technique et les résultats ont été notés dans un précédent chapitre. Nous donnons ici seulement les résultats concernant les échantillons considérés comme substances étalons.

Echantillons	Mw
Dextran 80	72 000
Dextran 20	20 000
Gélatine dégradée 17 heures	170 000

Tableau 17 : Masses moléculaires en poids des échantillons étalons.

2) Détermination des masses moléculaires en nombre M_n

Cette détermination est faite par osmométrie.

A) Rappel théorique

On s'appuie sur la relation de VAN'T HOFF

$$(24) \quad \pi / C = RT / M$$

π = pression osmotique

C = concentration en grammes par litre

R = constante des gaz parfaits

T = température absolue

La détermination de la pression osmotique est basée sur la mesure de la diminution d'activité du solvant pur en présence de soluté. Si l'activité du solvant pur est considérée comme étant égale à 1, sa diminution est égale à la fraction molaire x_2 du soluté

$$(25) \quad x_2 = 1 - a_1$$

L'activité du solvant en solution est ramenée à une valeur identique à celle du solvant pur $a_1 = 1$, sous l'effet de la pression osmotique exercée.

A ce moment-là, les deux liquides séparés par la membrane semi-perméable sont en équilibre thermodynamique. L'activité du solvant dans la solution la plus diluée est donnée par l'équation :

$$(26) \quad V_1 = RT \ln a_1$$

V_1 = volume molaire du solvant

R = constante des gaz parfaits

T = température absolue

Dans le cas d'une solution diluée $a_1 = x_1$

$$\text{Nous avons } V_1 = RT x_2 = \frac{RT C V_1}{M}$$

A dilution infinie nous obtenons :

$$(24) \quad (\pi / C)_0 = RT / M$$

Dans le cas d'un polymère polydispersé la relation devient :

$$(27) \quad \pi = RT \sum_i C_i / M_i = RTC \sum_i \frac{C_i / M_i}{C} = RTC / M_n$$

$$(28) \quad (\pi / C)_0 = RT / M_n$$

π/C est appelée pression osmotique réduite, elle varie avec la concentration (98 – 35 – 40 – 61).

Il est nécessaire de faire les mesures à plusieurs concentrations et d'extrapoler à concentration nulle.

B) Mesures

a) Appareillage utilisé

Les mesures que nous avons effectuées dans ce travail sont faites à l'aide d'un osmomètre dynamique à membrane MECHROLAB 501 HEWLETT PACKARD.

Sous l'action de la pression osmotique le solvant a tendance à traverser la membrane, la détection de ce flux de solvant est effectuée à l'aide d'une microbulle située dans un tube capillaire en relation avec un réservoir à solvant. Cette bulle est placée devant une cellule photo-électrique de mesure, montée en opposition avec une cellule de référence. Le moindre déplacement de la bulle détectée par cette cellule photo-électrique actionne un servo-mécanisme qui modifie la position d'un réservoir le long d'une crémaillère, amenant ainsi une variation dans la pression hydrostatique du solvant. Le système électromécanique est réglé de façon à ce que la variation de pression compense exactement la pression osmotique et annule tout flux du solvant à travers la membrane. Les variations du niveau du réservoir du solvant permettent d'évaluer directement la pression osmotique. L'équilibre est rapidement atteint.

STAVERMAN (103) montre que la mesure doit être effectuée aussitôt que possible, ceci afin d'éviter un transfert de certaines molécules du soluté à travers la membrane, malgré les inconvénients qu'il peut en résulter en ce qui concerne l'équilibre.

b) Conditions expérimentales

Les membranes utilisées dans nos mesures sont des membranes SCHLEICHER - SCHUELL B 19 qui sont conditionnées au point de vue température et solvant. Elles sont lavées 24 heures à l'eau distillée et température ambiante ; ensuite elles sont portées 24 heures dans un bain identique au solvant qui servira aux mesures et équilibrées à la température de l'expérience.

Gélatine

Avant l'expérience une solution de gélatine à 3 pour 100 est mise à dialyser 24 heures en chambre chaude à 37°C contre du chlorure de sodium à 9 pour 1000 afin d'éviter dans la mesure du possible des effets de variation de concentration saline de part et d'autre de la membrane semi perméable lors de la mesure. Les mesures sont faites sur des solutions diluées dont la teneur en gélatine varie de 15 gr/litre à 3 gr/litre. Entre chaque dilution est intercalée une mesure effectuée avec le solvant, mesure qui sert de référence.

Dextran

Dans le cas du dextran, la concentration des solutions aqueuses variant de 10 grammes/litre, à 2 grammes par litre, le solvant étant de l'eau distillée, aucune dialyse n'est nécessaire. Les mesures sont effectuées à 27° C.

c) Résultats

Les résultats peuvent être transcrits dans le tableau 18.

Echantillons	Mn
Dextran 80	40 500
Dextran 20	13 600
Gélatine dégradée	22 000

Tableau 18 : Masses moléculaires en nombre des échantillons étalons.

3) Diagrammes d'élution des échantillons étalons

Nous avons effectué les chromatographies sur gel poreux des trois composés étalons afin d'obtenir les relations $C_i = f (V_e/V_o)_i$ pour chaque échantillon ce qui nous permettra d'effectuer le calcul numérique proposé.

a) Conditions expérimentales

Le séphadex utilisé, les dimensions de la colonne et la détermination du volume mort ainsi que les autres conditions expérimentales sont portés dans le tableau ci-dessous.

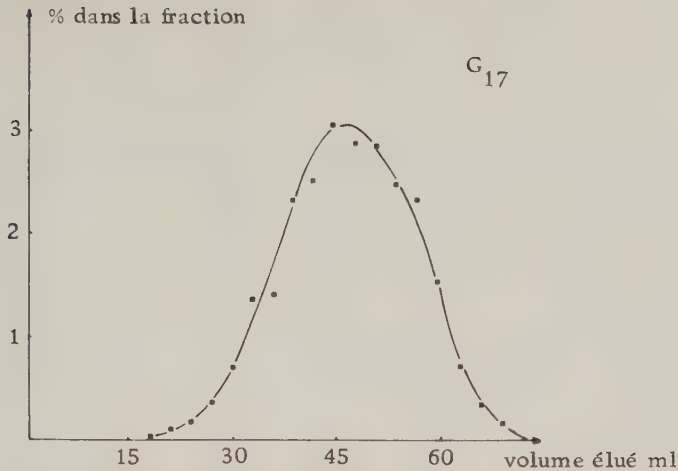


Fig. 47

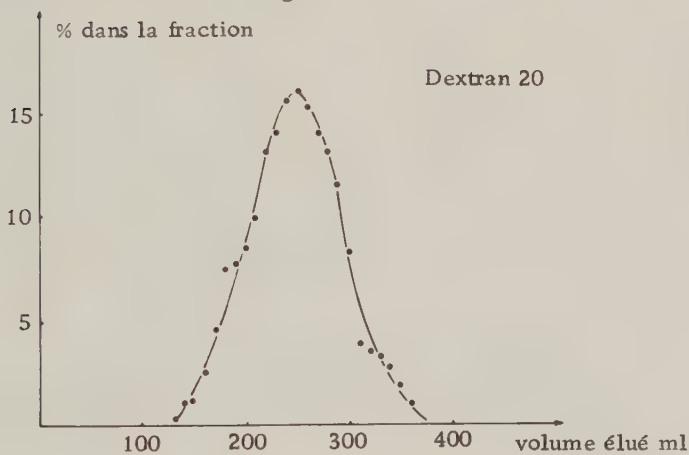


Fig. 48

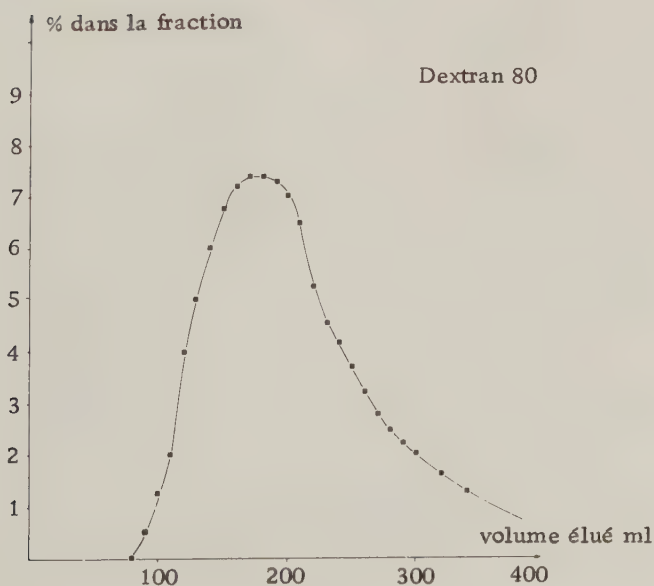


Fig. 49

Echantillons	Dextran 20	Dextran 80	Gélatine dégradée 17 heures
gel utilisé	G ₇₅	G ₂₀₀	G ₂₀₀
temps gonflement heure	24	72	72
dimensions colonne mm	27 x 800	27 x 800	15 x 430
volume total ml	458	458	76
V ₀ ml	124	80	15
fraction ml	10	10	3
t° expérience	20°C	20°C	37°C
prise essai mg	3200	4000	40

Tableau 19 : Conditions expérimentales des chromatographies sur gel poreux des échantillons étalons.

La concentration en dextran dans chaque fraction est évaluée par polarimétrie dans le cas des macromolécules stables.

Pour la gélatine la teneur en chaque fraction est déterminée par spectrophotométrie à 235 nm.

b) Résultats

Les diagrammes d'élution sont transcrits sur les graphiques (47 - 48 - 49).

4) Calcul numérique

L'organigramme base de ce calcul est porté sur la figure 50. Il est programmé en langage FORTRAN IV sur ordinateur I.B.M. 360-40.

5) Résultats de l'étalonnage

Les constantes a et b données par le calcul conduisent aux relations suivantes :

$$(29) \quad G_{75} \text{ Dextran } 20 \log M_i = 5,43 - 0,60 V_e / V_0$$

$$(30) \quad G_{200} \text{ Dextran } 80 \log M_i = 5,83 - 0,45 V_e / V_0$$

$$(31) \quad G_{200} G_{17} \log M_i = 7,86 - 0,99 V_e / V_0$$

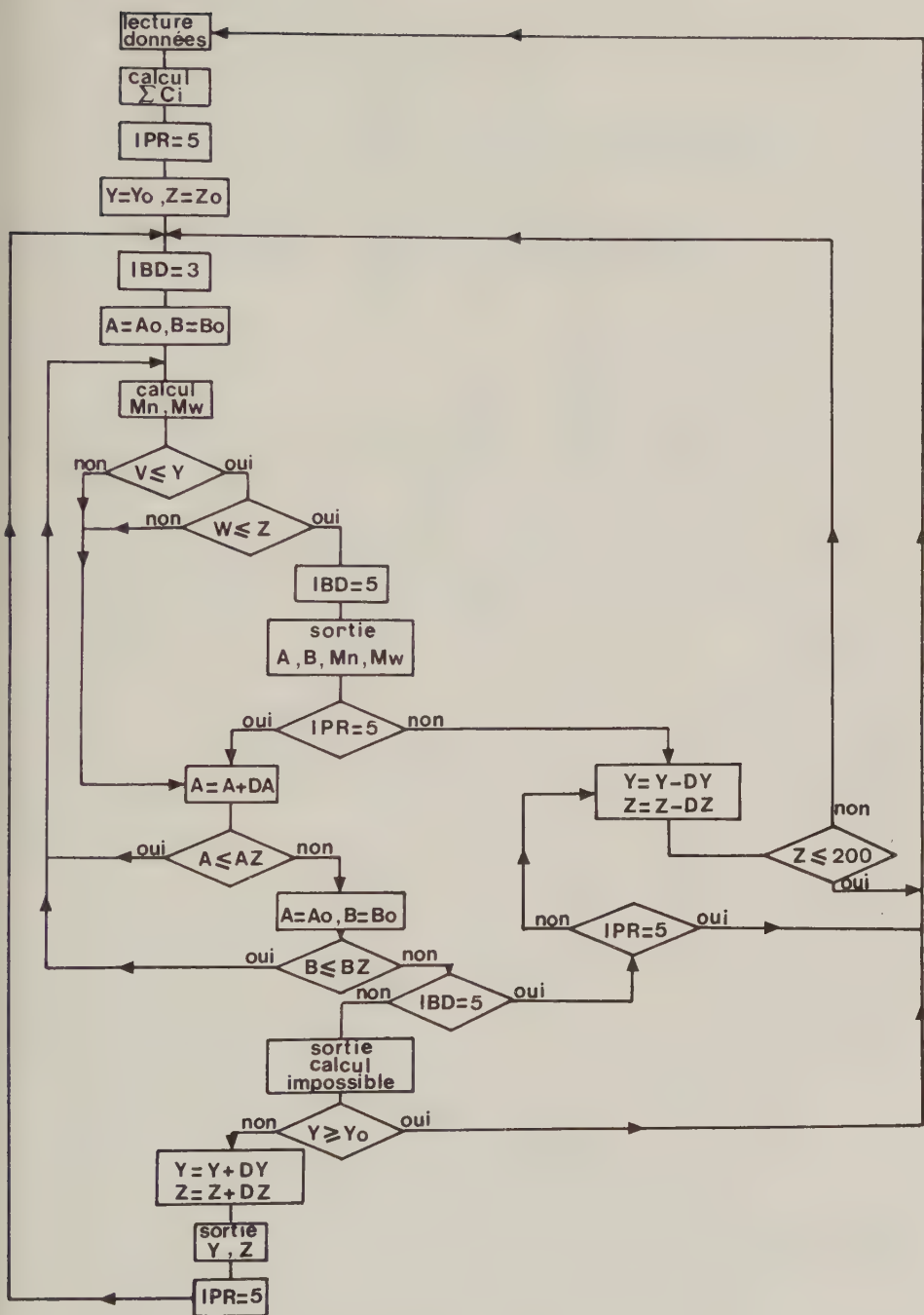


Fig. 50 - Organigramme

ce qui nous permet de tracer les droites d'étalonnage.

III. — APPLICATION — MASSES MOLECULAIRES DES MOLECULES MARQUEES

1) Diagrammes d'élution

a) Conditions expérimentales

Les séphadex utilisés, les dimensions de la colonne, ainsi que toutes les autres conditions expérimentales sont consignés dans le tableau ci-dessous :

Echantillons	Dextran *20	Dextran *80	Gélatine tritiée
gel utilisé	G75	G200	G200
temps gonflement heure	24	72	72
dimensions colonne mm	15 x 440	15 x 440	15 x 430
volume total ml	77,6	77,6	76
V ₀ ml	27	16	15
fraction ml	3	3	3
t° expérience	20°C	20°C	37°C
prise essai mg	8	6	13,4

Tableau 20 : Conditions expérimentales des chromatographies sur gel poreux des échantillons étudiés.

La teneur en dextran et en gélatine pour chaque fraction est déterminée par la détection de la radio-activité.

b) Résultats

Les diagrammes d'élution des dextran 80* et 20* sont portés sur les clichés (51 — 52). Pour la gélatine tritiée (cf. chapitre purification par chromatographie sur gel poreux (fig. 46).

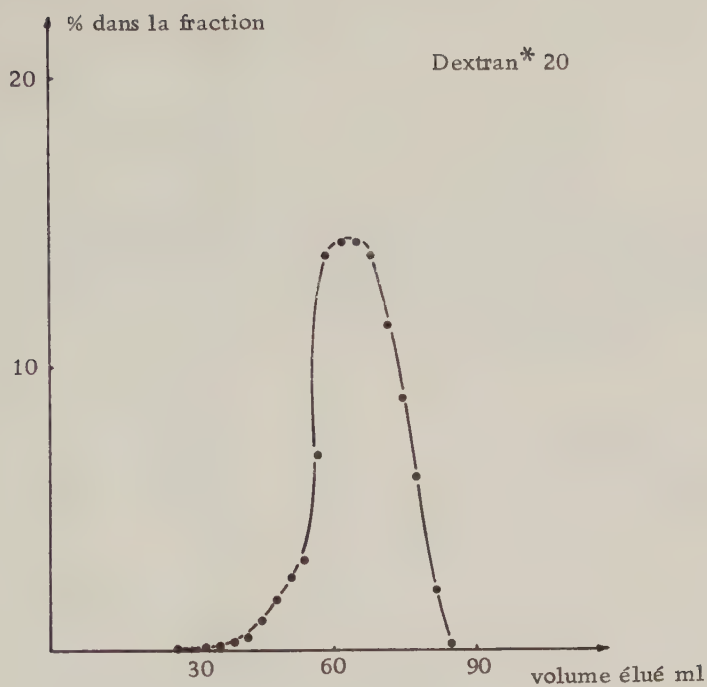


Fig. 51

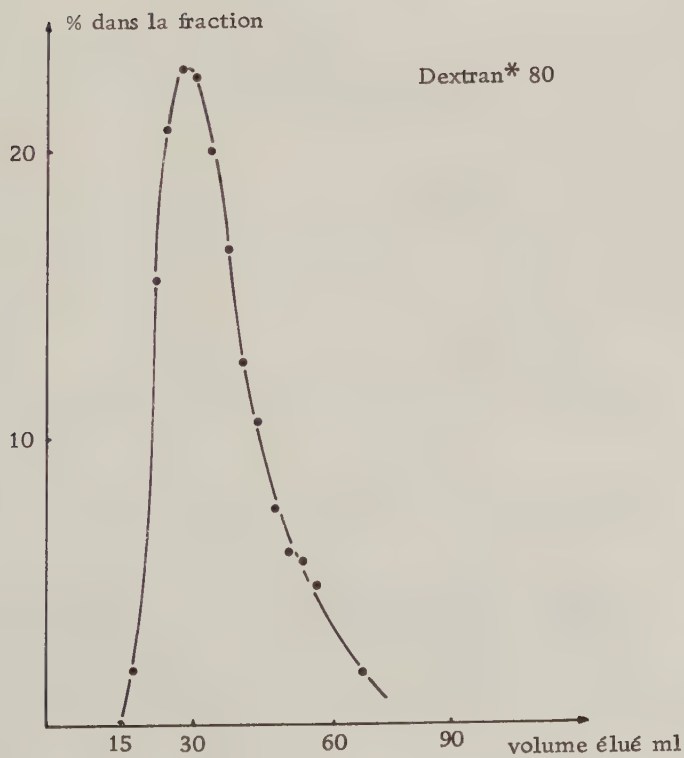


Fig. 52

2) Interprétation des diagrammes d'élution en masse moléculaire

A partir de l'étalonnage on peut transformer les courbes d'élution en courbe de répartition en masse moléculaire (fig. 53 — 54 — 55).

L'interprétation de ces courbes permet de calculer les masses moléculaires moyennes en poids et en nombre M_w et M_n .

Dans le tableau ci-dessous nous avons porté les résultats obtenus.

Echantillons	M_n	M_w
Dextran 20*	600	7 600
Dextran 80*	47 600	76 000
Gélatine tritiée	210 000	480 000

Tableau 21 : Masses moléculaires moyennes en poids et en nombre des échantillons étudiés.

CONCLUSIONS

Nous avons porté pour mémoire dans le tableau 22, les masses moléculaires moyennes en poids des échantillons étalons ayant servi à l'étalonnage des colonnes de chromatographie sur gel poreux.

Echantillons	M_w
Dextran 20	20 000
Dextran 80	72 000
Gélatine G_0	132 000

Tableau 22 : Masses moléculaires en poids des échantillons étalons.

La comparaison de ces masses moléculaires, avec celles des produits marqués correspondants, conduit aux remarques suivantes :

La masse moléculaire du dextran *80 marqué au carbone 14 est comparable à celle de l'échantillon stable. Par contre, les masses moléculaires du dextran *20 et de la gélatine tritiée sont bien plus faibles. Ces résultats confirment la dégradation intervenant lors de la tritiation par la méthode de WILZBACH.

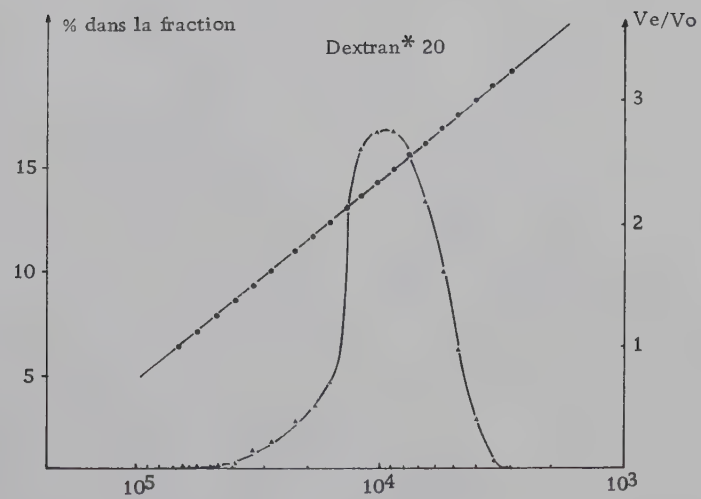


Fig. 53

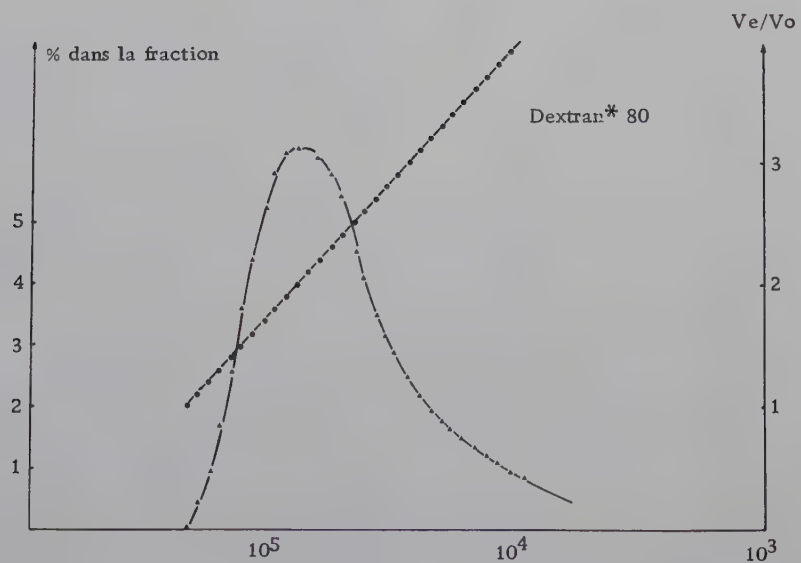


Fig. 54

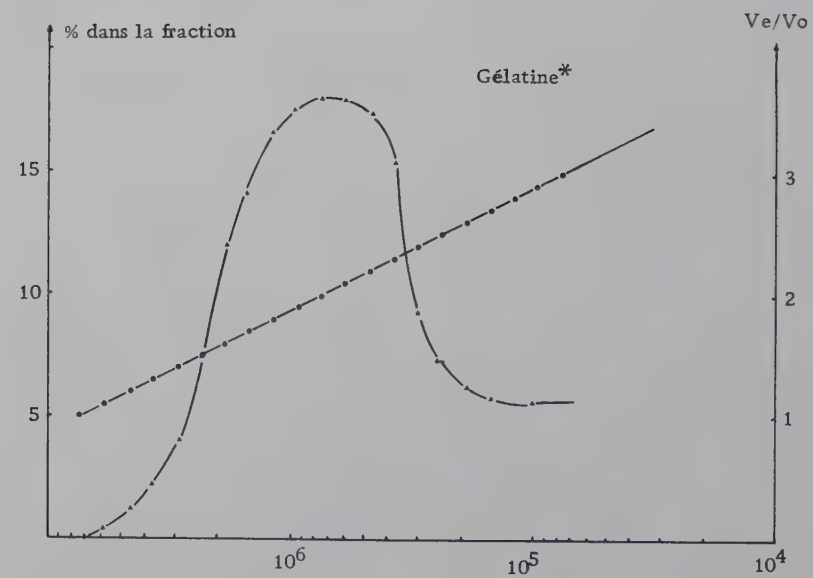


Fig. 55

Droites d'étalonnage et courbe de répartition en masse
des macromolécules marquées

CHAPITRE VIII

EVALUATION DIRECTE DE LA QUANTITE DE MACROMOLECULES FIXEE SUR LE COLLOIDE MINERAL

Dans la suite de ce travail, nous allons essayer, à l'aide de macromolécules marquées, d'évaluer la quantité de stabilisant réellement fixée sur le colloïde minéral.

Pour cela, il sera nécessaire de séparer, soit par chromatographie sur gel poreux, ou par chromatographie de partage sur support souple KODAK, ou bien par centrifugation, le colloïde stabilisé, de l'excès de stabilisant mis en jeu.

Dans cette étude nous nous sommes limités au cas du colloïde d'or. Il présente l'avantage de ne pas évoluer spontanément dans le temps (comme c'est le cas du bromure d'argent) et se prête aisément à une expérimentation prolongée.

INTERACTION – DEXTRAN – OR

I. – CHROMATOGRAPHIE SUR GEL POREUX

1) Conditions expérimentales

Le protocole expérimental ainsi que les séphadex employés sont identiques à ceux utilisés lors de la détermination des masses moléculaires des macromolécules marquées précédemment citées.

2) Résultats

Les résultats transcrits sur les graphiques (56 – 57) montrent que le colloïde d'or passe dans tous les cas au niveau du volume mort. Il est donc exclu immédiatement du gel. Par contre, le dextran passe en totalité au même niveau que l'échantillon initial.

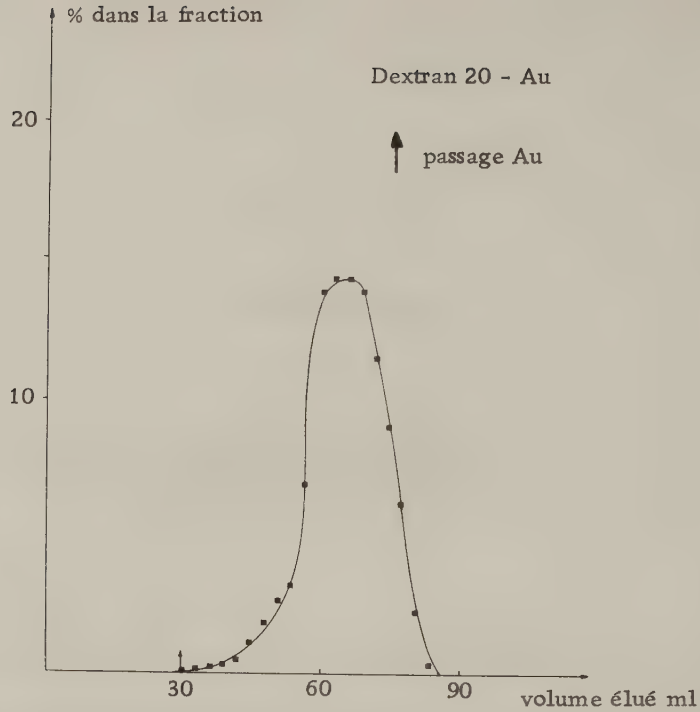


Fig. 56

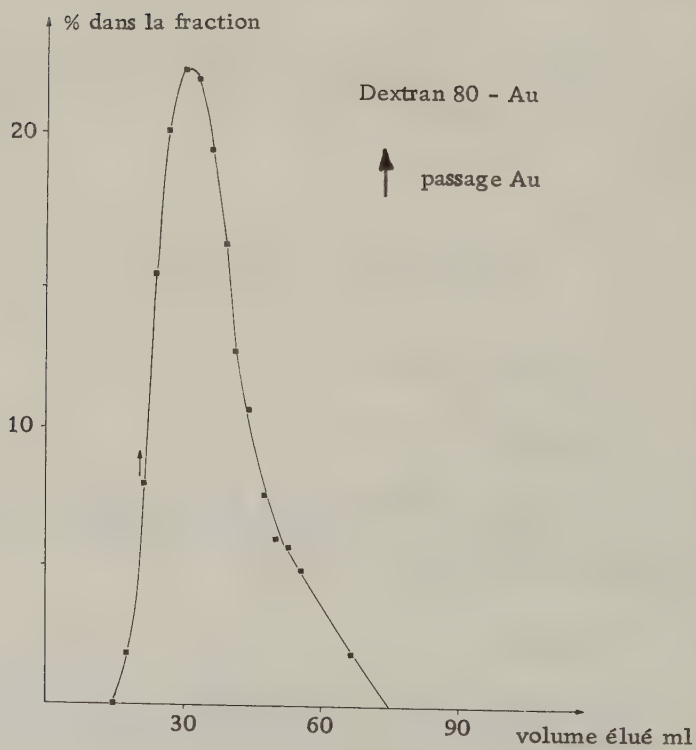


Fig. 57

Chromatographie sur gel poreux du colloïde d'or
protégé par des Dextrans marqués

D'autre part, nous avons vérifié la stabilité du colloïde vis-à-vis du ClNa à 10 pour 100, après chaque fractionnement. Le colloïde est toujours stable, avec cependant une légère tendance à la floculation au bout de 24 heures. Il faut noter qu'un colloïde d'or non stabilisé est adsorbé directement sur le gel et que son exclusion est à ce moment-là impossible, quelle que soit la quantité d'éluant mise en jeu.

Toutes ces observations nous amènent à penser que, s'il est nécessaire d'utiliser une grande quantité de dextran afin d'atteindre le seuil de stabilité (ce qui se traduit par une valeur protectrice très faible), seule une infime partie est réellement fixée au colloïde d'or. Afin de vérifier cette hypothèse nous avons effectué des mesures de chromatographies de partage en couche mince.

II. - CHROMATOGRAPHIE DE PARTAGE EN COUCHE MINCE

La chromatographie de partage en couche mince permet de déterminer quantitativement la quantité de dextran liée au colloïde minéral.

1) Conditions expérimentales

Les chromatographies sont effectuées sur papier chromatogramme EASTMAN préalablement imprégné de tampon phosphate (pH 6,8) pendant quelques secondes.

Le chromatogramme est séché dans un courant d'air froid avant d'y déposer trois microgouttes d'une solution de colloïde contenant des quantités variables de dextran *80 (1 mg - 5 mg - 10 mg par millilitre de colloïde) et de dextran *20 (1 mg - 8 mg - 12 mg par millilitre de colloïde).

La révélation des chromatogrammes est effectuée par autoradiographie (cf. page 33).

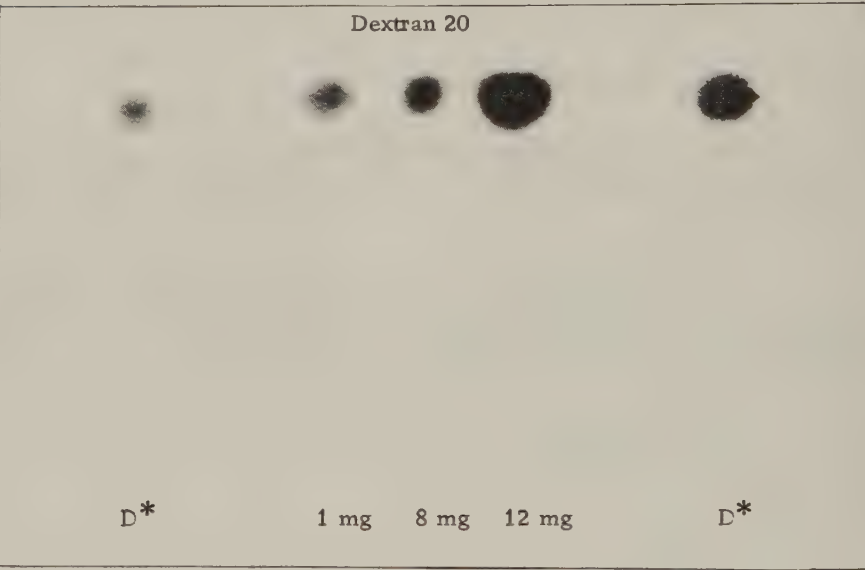


Fig. 58/59

Chromatographie de partage en couche mince d'un colloïde d'or stabilisé par des Dextrans marqués

2) Résultats

Les résultats portés sur les clichés ci-contre (58 – 59) révèlent la présence du colloïde d'or reconnaissable à sa coloration rose au point de départ. Le dextran par contre a migré avec le front du solvant.

Compte tenu de la sensibilité de cette technique radio-active testée au laboratoire dans les mêmes conditions sur d'autres systèmes nous pouvons en déduire qu'il y a moins de 1 pour 100 de dextran fixé sur le colloïde d'or.

On peut en conclure que pour ce système dextran – or, une très faible partie du stabilisant joue un rôle efficace dans la stabilisation, la majeure partie restant libre. Ces résultats montrent aussi qu'il y a malgré tout des molécules qui adhèrent sur les micelles. En effet, celles-ci doivent suivre les grains d'or hors du passage à travers le gel poreux, pour justifier le maintien de la stabilisation du colloïde d'or, et son exclusion rapide du gel.

INTERACTION – GELATINE – OR

Certains auteurs, HELLER et PUGH (52) ou CURME et NATHALE (28) travaillant sur les systèmes polyéthylène-or, ou gélatine-bromure d'argent, signalent que, dans le cas de certaines molécules telles que la gélatine, précisément, la stabilisation peut être reliée à l'adsorption de la macromolécule à la surface du colloïde minéral.

Dans ce travail nous avons essayé de déterminer quelle est la quantité de gélatine réellement liée au colloïde d'or. On utilise ici, afin d'évaluer les quantités fixées, la centrifugation comme méthode de séparation entre le colloïde minéral et l'excès de stabilisant.

Nous essayerons de relier les résultats obtenus avec ceux donnés par les expériences d'adsorption ; nous avons voulu en particulier voir si la relation de LANGMUIR permettrait de calculer l'équation de la courbe représentative de la variation.

1) Conditions expérimentales

Nous avons fait varier le rapport or/gélatine. Les valeurs choisies s'échelonnaient de 7,1 à 1070 domaine qui recouvrait la valeur protectrice de la gélatine mise en jeu.

La radio-activité du mélange est déterminée sur une prise d'essai de 200 mg à l'aide du spectromètre à scintillation liquide TRI - CARB - PACKARD 3320.

La solution est ensuite centrifugée à 6000 tours minute pendant dix minutes afin que le colloïde d'or sédimente, et se sépare ainsi de la gélatine non réellement fixée. A cette vitesse de rotation, on peut estimer que la sédimentation de la gélatine est négligeable. L'activité est alors déterminée comme précédemment sur le surnageant et sur la totalité du culot prélevé à l'aide d'une pipette Pasteur.

La détermination de la quantité de gélatine réellement liée à l'or peut être effectuée en notant la diminution d'activité du surnageant. Cependant, dans certains cas, la différence d'impulsion par minute est inférieure à la précision statistique des mesures qui est de $\sqrt{n}$ (n étant le nombre d'impulsions minute). Une autre source d'erreurs a pour origine l'adsorption de la gélatine sur les parois des récipients en plastique dans lesquels la solution est placée lors de la centrifugation. De ce fait la diminution d'activité dans le surnageant n'est pas le reflet exact de la quantité fixée sur l'or.

Il nous a donc paru préférable d'évaluer la quantité fixée sur le culot en déterminant directement son activité bien que le prélèvement soit plus délicat à opérer que celui du surnageant.

2) Résultats

Les quantités de gélatine fixées par un gramme d'or en fonction du rapport or/gélatine sont portées sur le graphique 60.



Quantité de gélatine fixée par 1 gramme d'or en fonction du rapport or/gélatine

Fig. 60

Malgré la dispersion des points, inhérente à la non parfaite reproductibilité des expériences, on peut faire la remarque suivante :

Les quantités de gélatine fixée par gramme d'or varient en moyenne de 20 mg pour un rapport d'or/gélatine égal à 7,1 et décroissent ensuite régulièrement jusqu'à des quantités de 3 mg pour des valeurs or/gélatine élevées.

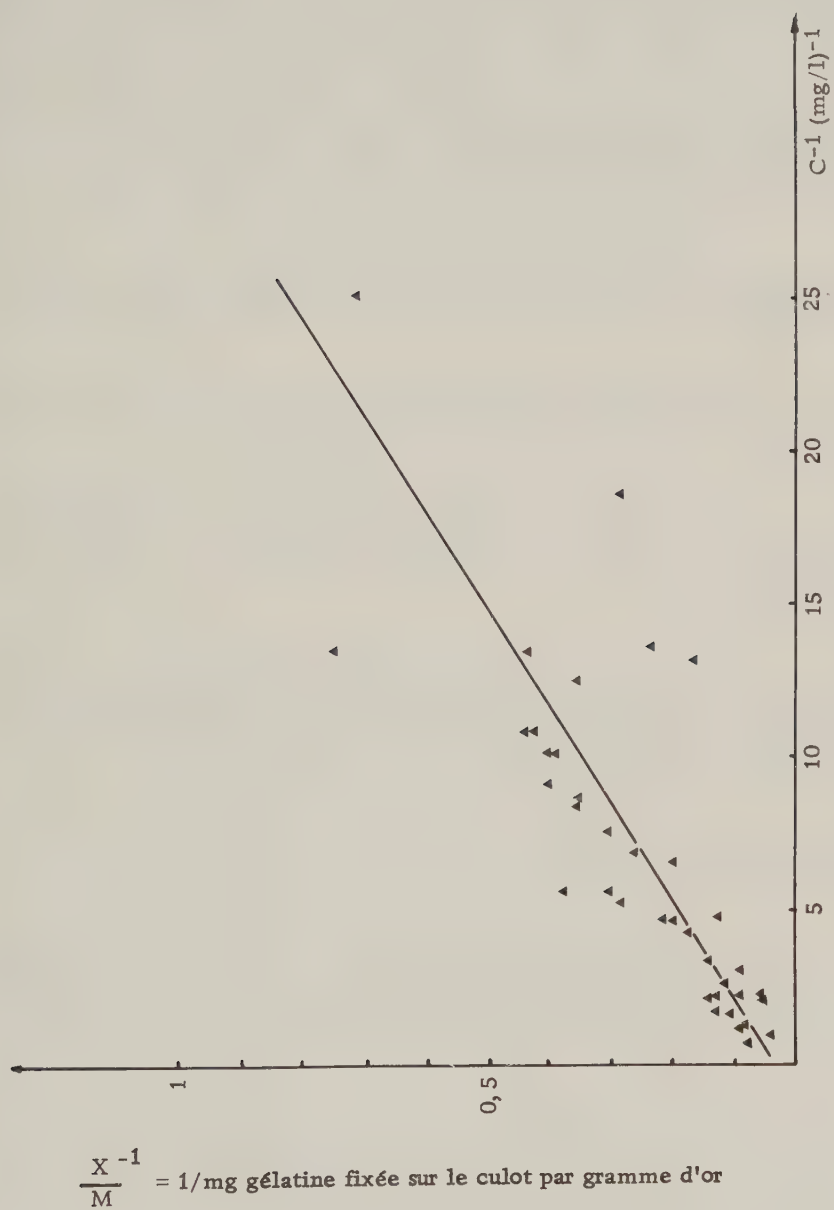
3) Analyse des résultats

Il est classique d'interpréter les expériences de stabilisation par les phénomènes d'adsorption des polymères. Pour représenter cette adsorption à une interface solide — liquide, plusieurs formules ont été successivement proposées ; parmi celles-ci, la plus utilisée est l'équation de LANGMUIR.

$$(32) \quad \left(\frac{X}{M} \right)^{-1} = \frac{a}{c} + \frac{1}{b}$$

Relation dans laquelle X est le poids du polymère adsorbé en milligramme, M le poids de l'adsorbant en milligramme, C la concentration d'équilibre du polymère en mg/litre, b la quantité de gélatine exprimée en milligramme, fixée à saturation sur la quantité d'or exprimée aussi en milligramme.

Cependant certains auteurs et en particulier FRISCH, SIMHA, EIRICH (37) ont indiqué que dans le cas des macromolécules, l'adsorption en fonction de la concentration ne suit pas la loi de LANGMUIR : l'augmentation de l'adsorption est plus rapide. Les auteurs ont fait une analyse statistique basée sur la liaison par plusieurs segments du polymère adsorbé ; ils ont déduit une isotherme d'adsorption. Malgré ce, certains résultats expérimentaux sont en accord avec l'isotherme de LANGMUIR.



Isotherme de LANGMUIR représentant la quantité de gélatine fixée sur le culot par un gramme d'or.

Fig. 61

Il en est ainsi des résultats obtenus notamment par PETERSON (83) avec le système acétate de polyvinyl—chrome en milieu benzenique. Les auteurs montraient en réalité que le processus d'adsorption s'effectuerait en plusieurs étapes ; la première étape serait représentée cinétiquement par une équation du type LANGMUIR quand la concentration en polymère est suffisamment basse. Ces auteurs émettent l'hypothèse que la probabilité pour que tout le segment d'une molécule adsorbée soit en contact avec la surface est une fonction de la quantité maximale adsorbée. Cela rend plus complexe la théorie F.S.E.

Nos mesures ont été conduites dans un faible domaine de concentrations. Nous pouvons donc essayer de représenter nos résultats selon LANGMUIR.

Il faut toutefois noter que l'application de cette loi suppose, comme celle de la théorie F.S.E., la formation d'une monocouche.

La figure 61 où sont portés les résultats de nos expériences montre que l'on a une assez bonne linéarité de l'isotherme de LANGMUIR. Les incertitudes sur l'extrapolation ne changent pas, en tous cas, l'ordre de grandeur de la quantité fixée.

La droite de régression représentative de cet isotherme est calculée par la méthode des moindres carrés. L'inverse de son intersection avec l'axe des ordonnées conduit à la valeur de b , c'est-à-dire à la quantité maximum de polymère adsorbée par un gramme d'or.

Nous trouvons que la quantité maximum adsorbée est de 25 mg de gélatine pour un gramme d'or.

A partir de ces résultats, connaissant les dimensions du colloïde d'or, et la masse moléculaire de la gélatine objets de cette étude, nous avons pu d'une part évaluer le nombre de molécules de gélatine fixées sur une particule d'or, et d'autre part exprimer les résultats obtenus en quantité fixée par unité de surface.

La masse moléculaire moyenne en nombre de la gélatine étant de 210 000, et le colloïde d'or ayant un diamètre de 60 nm, nous trouvons qu'une particule d'or adsorbe à saturation 180 molécules de gélatine.

La surface développée par un gramme d'or est de $5,2 \cdot 10^4 \text{ cm}^2$, la quantité maximum de gélatine adsorbée est donc de $4,8 \cdot 10^{-4} \text{ mg/cm}^2$.

A partir de la courbe (60), et connaissant le rapport or/gélatine correspondant à la valeur protectrice, on peut déterminer la quantité de gélatine fixée par gramme d'or lors de la stabilisation et par suite, la quantité fixée par unité de surface. Elle est de $2,4 \cdot 10^{-4} \text{ mg/cm}^2$.

Remarquons en terminant que POURADIER étudiant le système bromure d'argent – gélatine trouve que un gramme de bromure d'argent adsorbe à saturation $5 \cdot 10^{-4} \text{ mg/cm}^2$ de gélatine.



Cliché N°9

Colloïde d'or non stabilisé avec ombrage au chrome à 45°.
Grossissement : 9 500 fois.



Cliché N°10

Colloïde d'or protégé par de la gélatine avec ombrage au chrome à 45°.
Grossissement : 9 500 fois.

ESSAI DE CONTROLE DE LA COUCHE PROTECTRICE PAR MICROSCOPIE ELECTRONIQUE

Nous avons essayé de visualiser la présence de la couronne protectrice à l'aide de la microscopie électronique.

a) Conditions expérimentales

Dans cette étude, nous avons fait appel à une technique d'ombrage au chrome à 45° . Les examens en microscopie électronique ont été effectués sur un échantillon d'or non stabilisé et sur le même échantillon d'or protégé par une macromolécule.

b) Résultats

Le cliché 9 représente un colloïde d'or non stabilisé et ombré à 45° .

Le cliché 10 représente le même colloïde d'or stabilisé par un échantillon de gélatine dégradée 6 heures et ombré de la même façon que précédemment.

La teneur en gélatine dans l'échantillon est de $0,54 \cdot 10^{-3}$ grammes, ce qui correspond à une fois la valeur protectrice de la gélatine.

Il semble que l'existence de la couronne protectrice provoque un élargissement de l'ombre, ceci reflétant une augmentation du volume de la particule.

Nous avons multiplié les clichés dans des conditions analogues mais nous nous sommes heurtés à des difficultés d'interprétation des images. Il ne semble pas que la reproductibilité des résultats soit satisfaisante ; d'autre part, les artefacts sont très nombreux en microscopie électronique.

Il faut donc de ce fait donner aux clichés obtenus une simple valeur indicative.

DISCUSSION ET CONCLUSION

CHAPITRE IX

DISCUSSION SUR LES FACTEURS DE LA STABILISATION

L'ensemble de nos résultats nous amène à porter quelques considérations concernant certains aspects généraux de la stabilisation.

Nous pouvons ainsi comparer dans les mêmes conditions expérimentales, d'une part l'action de divers stabilisants sur un même colloïde minéral, et d'autre part la stabilisation de différentes particules minérales par un même polymère.

I) — Nous examinerons en premier lieu le cas du colloïde d'or et sa stabilisation par des macromolécules différentes.

L'étude que nous avons faite des tests de stabilisation, a permis d'obtenir un résultat important, à savoir qu'au moment où le colloïde est considéré, au vu des tests classiques comme protégé, nous étions loin de la concentration conduisant à la stabilisation parfaite, c'est-à-dire celle où chaque particule colloïdale est individualisée. De plus, les études quantitatives que nous avons pu effectuer ont montré, autre résultat intéressant, qu'au niveau de cette valeur protectrice, la quantité de macromolécule fixée n'est qu'une partie de la quantité de macromolécule mise en jeu. Ainsi, dans le cas de la gélatine, approximativement le quart de la quantité introduite est adsorbée sur la particule. Il faut aussi remarquer qu'à ce stade-là (valeur protectrice) la quantité fixée n'est que le huitième de la quantité totale que le colloïde peut adsorber.

La stabilisation telle qu'elle est évaluée habituellement, ne correspond donc pas et de loin à la formation d'une couche complète sur la particule colloïdale. Il y a d'autre part une sorte d'équilibre entre la quantité fixée et la quantité libre.

En ce qui concerne la façon dont la macromolécule de gélatine est fixée sur la particule d'or, aucun auteur n'a, à notre connaissance, envisagé ce système.

Pour d'autres systèmes les premières interprétations proposaient l'existence d'une couche plate monomoléculaire (29 - 8) ; cependant, plus la grandeur de la molécule devient importante, plus la difficulté de s'accrocher par toute sa longueur sur le colloïde devient grande. Et il n'est pas impossible de penser que lorsque la molécule stabilisante devient de dimensions comparables à celles du colloïde, la liaison ne se fait que par quelques points. C'est l'hypothèse qui a été avancée par POURADIER(88) puis par CURME (28) pour les systèmes gélatine-bromure d'argent. Pour ces auteurs, la gélatine n'est fixée sur le colloïde que par quelques points. Une hypothèse identique a été émise par HELLER et PUGH pour le système polyéthylène glycol-or. De même les résultats de SKRYLOV et KATILINA (101) ne peuvent être interprétés en admettant une couche mince à la surface de la particule colloïdale.

Une description théorique de l'état d'une molécule adsorbée a été donnée par divers auteurs et notamment par SILBERBERG (100) HOEVE (53) MOTOMURA et MATUURA (77).

Ces auteurs considèrent le cas d'une macromolécule homogène, en ce sens que tous les segments ont à priori une chance égale d'être adsorbés ; ils aboutissent à une adsorption en boucle.

Dans le cas de la gélatine qui contient d'assez nombreux groupements polaires, cet effet devrait se manifester. En effet, les travaux de FONTANA (36) ont montré que l'introduction d'une fraction relativement faible de substituants polaires dans un polymère entraînait une grande augmentation de la dispersion ; pour leur système, l'épaisseur du film passerait ainsi de 3 à 20 nm.

CURME est allé plus loin dans l'étude de ce modèle, et a montré que l'adsorption des molécules sur la surface entraînait une modification de leur configuration. Des molécules adsorbées sont plus compactes ou plus allongées dans une direction normale à la surface, ou dans les deux directions à la fois.

Aucune technique ne permet d'atteindre directement la morphologie de cette couche et les essais que nous avons tenté en microscopie électronique se sont avérés insuffisants pour conclure.

Un argument indirect en faveur de ces derniers modèles est l'influence de la masse moléculaire. En effet, la quantité adsorbée augmente avec la masse moléculaire ce qui ne se comprend que dans la théorie « boucle ». Un argument de plus en faveur de cette hypothèse est la liaison qui a été mise en évidence par BONTOUX (13) entre les particules d'or et de la gélatine ; cette liaison se fait par l'intermédiaire de groupements NH_2 . Comme ces groupements sont relativement peu nombreux, la macromolécule ne serait fixée que par quelques points formant ainsi des boucles larges.

Nous verrons ultérieurement que la comparaison avec d'autres systèmes peut apporter des arguments supplémentaires pour cette hypothèse.

Si on considère le système **dextran** — or, on peut d'abord noter que la quantité de dextran mise en jeu pour la stabilisation est à peu près mille fois plus élevée que dans le cas de la gélatine.

Nos résultats montrent qu'une certaine quantité de polymère se fixe sur les particules minérales, mais que cette quantité est extrêmement faible, inférieure à un pour 100.

Cette liaison ne peut se faire que par adsorption physique, étant donné la très faible affinité chimique existant entre le dextran et l'or.

Le mécanisme de stabilisation apparaît donc comme étant totalement différent de celui intervenant pour le système or — gélatine. Le simple effet de viscosité semble avoir une part prépondérante dans la stabilisation malgré la faible liaison dextran — or observée. Ceci semble être confirmé par le fait qu'il est très difficile sauf dans certains cas particuliers tels dextran 500 et or d'obtenir une stabilisation totale des sols malgré les quantités importantes mises en jeu.

En ce qui concerne le système or — polyvinyl pyrrolidone nos résultats montrent que la P.V.P. comme la gélatine a une action stabilisante à faible concentration ($4,7 \cdot 10^{-4}$ pour 100) ce qui met en évidence la grande efficacité de ce polymère comme protecteur, mais il faut noter que l'action stabilisante diminue lorsque la masse moléculaire augmente. Résultats que l'on peut rapprocher de ceux de JIRGENSONS (56) obtenus sur le système P.V.P. — BrAg ; les fractions de faible viscosité stabilisaient mieux le bromure d'argent que les fractions de viscosité élevée.

La comparaison de ces trois systèmes montre que trois facteurs de stabilisation interviennent. La masse moléculaire du stabilisant, sa configuration, et l'affinité du couple macromolécule — colloïde.

- En ce qui concerne la masse moléculaire, il nous semble que ce ne soit pas le facteur dominant, tout au moins dans le domaine de concentrations que nous avons étudié, si l'on s'attache à la stabilisation totale du sol et non à une stabilisation partielle du type de THIELE.

- Par contre, l'importance de la configuration de la macromolécule apparaît nettement si l'on compare les résultats obtenus pour le système or — P.V.P. et ceux obtenus dans les autres cas (or — gélatine ; or — dextran).

Elle peut seule expliquer vraisemblablement la différence de l'évolution du pouvoir stabilisant avec la masse moléculaire. On peut supposer en effet qu'étant donné l'encombrement et le nombre de noyaux pyrrolidone sur la chaîne de P.V.P., la flexibilité de ce polymère est moins grande que celle de la gélatine (protéine dégradée) ou même que celle du dextran.

Dans ces conditions la formation des boucles à l'interface liquide solide paraît difficile et de ce fait, l'enrobage de la particule minérale par des petites molécules est favorisé.

L'importance de l'affinité du couple macromolécule — colloïde apparaît clairement dans la comparaison or — gélatine et or — dextran.

II — L'examen des résultats obtenus sur la stabilisation du colloïde d'or par différentes molécules a permis de préciser l'importance, suivant la macromolécule, de certains facteurs de stabilisation.

La fixation de la gélatine sur le bromure d'argent a été étudiée notamment par POURADIER (88) et par CURME et NATALE (28). Leurs résultats étaient suffisamment concordants pour qu'il ne soit pas apparu nécessaire de refaire leurs expériences. La quantité fixée à la saturation est de 5 à $7 \cdot 10^{-4}$ mg/cm². Cette quantité adsorbée est donc du même ordre de grandeur que dans le cas du colloïde d'or et de la gélatine (à la saturation $4,8 \cdot 10^{-4}$ mg/cm²).

Il est important de noter que nos travaux relatifs au test de stabilité montrent que la stabilisation par la gélatine se fait effectivement pour les deux colloïdes dans la même zone de concentration.

Ce résultat est remarquable car, en dehors du fait que les conditions expérimentales de POURADIER, celles de CURME et NATALE et les nôtres, sont très différentes, il faut noter que les sites susceptibles d'être intéressés par une liaison noyaux métalliques — protecteur ne sont pas les mêmes dans le cas de l'or et du bromure d'argent.

En effet, ce sont les groupements carboxyliques, relativement nombreux sur la chaîne protéique qui interviennent vraisemblablement dans le cas de l'argent par liaison avec des Ag^+ , alors que ce sont les groupements NH_2 et essentiellement ceux de la méthionine, peu nombreux, qui interviennent dans le cas de l'or (87).

Si l'on reste dans le cadre de l'hypothèse de l'existence d'une monocouche de polymère autour de la particule, hypothèse que l'on est obligé de poser en appliquant la loi de LANGMUIR, comme nous l'avons indiqué, il faut admettre, devant l'analogie observée des résultats, que les chaînes macromoléculaires ont tendance à s'aplatir aux interfaces solide - liquide.

Cette conclusion paraît en contradiction avec la théorie des boucles puisque la dimension des boucles, donc par conséquent la quantité de stabilisant fixée, doit logiquement dépendre de la distance entre les sites actifs.

L'existence d'une multicouche comme l'a par exemple déjà envisagé POURADIER permettrait peut-être de lever cette contradiction en minimisant l'effet du mode de fixation de la macromolécule sur la surface minérale par rapport à la liaison des couches entre elles.

La formation de cette multicouche aurait aussi une influence, comme nous l'avons signalé, sur la validité de l'extrapolation de LANGMUIR.

Monocouche et multicouche peuvent d'ailleurs se succéder lorsque la concentration en gélatine augmente.

Une structure tridimensionnelle se formerait après un réarrangement des segments des polymères à la surface. Cette dernière hypothèse nous paraît la plus vraisemblable, l'existence de la monocouche pouvant difficilement être mise en doute aux très faibles concentrations comme nous le suggèrent par exemple LEVI et STEPANOVA (66) pour la zone de sensibilisation.

Cette analyse faite sur les systèmes or – gélatine et argent – gélatine confrontée avec les résultats obtenus par les systèmes or – dextran et argent – dextran, or – PVP et argent – PVP semble en tout cas indiquer que l'influence du noyau métallique est peu sensible sur les phénomènes de stabilisation totale, le stabilisant gardant le rôle essentiel.

CONCLUSIONS

En concluant notre travail, il nous est possible de souligner certains points concernant, d'une part les méthodes d'étude utilisées en physico-chimie colloïdale, et d'autre part l'aspect plus fondamental de la stabilisation des colloïdes minéraux par les macromolécules en milieu aqueux.

L'étude de la stabilité que nous avons conduite en parallèle par diffusion lumineuse, microscopie électronique et par le test de ZSIGMONDY montre la relativité des résultats chiffrés que l'on peut proposer dans les expériences de stabilisation. Nous noterons en particulier que les valeurs protectrices classiques ne coïncident pas avec la stabilisation totale et que lorsque l'on considère les valeurs protectrices, on travaille dans un domaine de concentrations éloigné de la saturation de la surface. Il en découle de ce fait que les études portant sur la stabilisation, et effectuées par des méthodes basées sur l'adsorption, ne sont pas directement comparables aux autres.

La méthode diffusométrique que l'on peut rapprocher de la méthode turbidimétrique utilisée par divers auteurs, mais qui est plus sensible que celle-ci pour déceler les modifications limites du système, lorsque l'on se rapproche de la stabilité totale du sol, nous semble permettre une approche rationnelle et générale des phénomènes de stabilisation. Son application systématique à un grand nombre de systèmes nous paraît être une des meilleures techniques d'étude des problèmes colloïdaux envisagés, les tests classiques (changement de coloration, centrifugation, etc. . .) ne pouvant avoir qu'un rôle complémentaire bien qu'ils permettent plus facilement une appréciation chiffrée.

Nos résultats expérimentaux mettent en évidence l'importance relative des trois facteurs de stabilisation : masse moléculaire, configuration et spécificité dans la stabilisation.

Ils soulignent, malgré le rôle dominant des effets stériques, l'influence assez limitée de la masse moléculaire dans le domaine exploré ($2 \cdot 10^4$ à 10^6) et pour les dimensions particulières étudiées (5 à 200 nm).

Le mode de fixation du polymère sur la partie minérale conditionne non seulement la quantité de stabilisant fixée, mais aussi la configuration des boucles et par là même, l'épaisseur de la couche protectrice.

La structure de cette couche dépend bien entendu en définitive de la configuration même de la macromolécule et de sa flexibilité en solution.

BIBLIOGRAPHIE

BIBLIOGRAPHIE

- (1) K. ALTGELT et coll., *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 47, 1914, (1961).
- (2) W.M. AMES, *J. Soc. Chem. Ind. London.*, 63, 277, (1944).
- (3) D.M.W. ANDERSON, J.F. STODDART, *Anal. Chim. Acta. Anal. Clin. Acta.*, 34, 401, (1966).
- (4) P. ANDREWS, *Biochem.*, 96, 595, (1965).
- (5) P. ANDREWS, *Lab. Pract.*, 16, 851, (1967).
- (6) E. ANTONINI et coll., *Biopolymers.*, 2, 27, (1964).
- (7) H. BENOIT, *J. Polymer. Sci.*, 11, 507, (1953).
- (8) J.S. BINFORD, A.M. GOSSLER, *J. Phys. Chim.*, 63, 1376, (1959).
- (9) W.L. BLOOM, M.L. WILLCOX, *Proc. Soc. Exptl. Biol. Med.*, 76, 3, (1951).
- (10) H. BOEDTKER, P. DOTY, *J. Phys. Chem.*, 58, 968, (1954).
- (11) H. BOEDTKER, P. DOTY, *J. Am. Chem. Soc.*, 78, 4267, (1956).
- (12) J.H. DE BOER, *Trans. Faraday, Soc.*, 32, 21, (1936).
- (13) J. BONTOUX, *Thèse Doct. ès Sciences Physiques Montpellier.*, (1961).
- (14) J. BONTOUX, J.P. BALI, A. DAUPLAN, *Ann. Phys. Biol. et Méd.*, 4, 151, (1970).
- (15) A. BOUTARIC, M. VUILLAUME, *Compt. Rend.*, 172, 1, (1921).
- (16) A. BOUTARIC, M. VUILLAUME, *Compt. Rend.*, 173, 229, (1921).
- (17) A. BOUTARIC, *Bull. Acad. Belg.*, 560, (1924).

- (18) A. BOUTARIC, *J. Chim. Phys.*, 25, 120, (1923).
- (19) F.A. BOVEY, *J. Polymer. Sci.*, 35, 167, (1959).
- (20) J.H. BOWES et coll., *Nature and Structure Collagen Randall*, p. 199, (1953).
- (21) DE BROUCKERE et coll., *Bull. Soc. Chim. Belg.*, 60, 11, (1951).
- (22) J.B. CARMICHAEL, *Biopolymers.*, 6, 1497, (1968).
- (23) D.L. CHAPMAN, *Phil. Mag.*, 25, 475, (1913).
- (24) J. CLAYFIELD, C. LUMB, *J. Colloid. Sci.*, 22, 269, (1966).
- (25) J. COMBET, *Thèse Doct. ès. Sciences Physiques Montpellier*, (1962).
- (26) A. COURTS, *Biochem. J.*, 58, 70, (1954).
- (27) A. COURTS, G. STAINSBY, *Recent. Adv. Gelatin and Glue Res. Pergamon. Press. New York*, p. 100, (1958).
- (28) H.C. CURME, C.C. NATALE, *J. Phys. Chem.*, 68, 3009, (1964).
- (29) T.A. DEGTYAREVA, S.G. MOKRUSHIN, *Izv. Vysshikh. uchi. Zaved. khimiya. i khimi. Tekhnologiya.*, 1, 3, (1958).
2, 30, (1959).
- (30) B.V. DEJARGUIN, L. LANDAU, *Acta. physicochim.*, 14, 633, (1941).
- (31) F. DOERINCKEL, *Z. Anorg. Chem.*, 63, 344, (1909).
- (32) J. DONAU, *Monatsh. Chem.*, 26, 525, (1905).
- (33) R. DREYWOOD, *Ind. Eng. Chem. Anal.*, 18, 499, (1946).
- (34) J. DUCLAUX, *Les Colloïdes Paris*, p. 240, (1925).
- (35) J.P. FLORY, *Princpl. Polymer. Chem. Cornell Ithaca.*, (1953).
- (36) B.J. FONTANA, *J. Phys. Chem.*, 67, 2360, (1963).
- (37) H.L. FRISCH, R. SIMHA, R. EIRICH, *J. Chem. Phys.*, 21, 365, (1953).

- (38) F.A. GIANTURCO, P. CERLETTI, *Gazz. Chim. Ital.*, 96, 574, (1966).
- (39) A.G. GORNALL et coll., *J. Biol. Chem.*, 177, 751, (1949).
- (40) G. GOUY, *J. Phys.*, 9, 457, (1910).
- (41) G. GOUY, STERN, *Ann. Phys.*, 7, 129, (1917).
- (42) K. GRANATH, *J. Colloid. Sci.*, 13, 308, (1958).
- (43) J.H.S. GREEN, *Chem. Ind. London.*, 8, 1036, (1961).
- (44) A. GRONWALL, B. INGELMAN, *Nature.*, 155, 45, (1945).
- (45) G. GROTHE, *Acta. Chirg. Scand. Suppl. Stockholm* (1956).
- (46) R.A. GUGGENHEIM, *Thermodyn. 2nd Intersci. New York* (1950).
- (47) A. GUTBIER, *Z. Anorg. Chem.*, 31, 448, (1902).
- (48) H.C. HAMAKER, *Rec. Trav. Chim.*, 55, 1015, (1936).
56, 727, (1937).
- (49) H. HAMDY et coll., *OHIO. J. Sci.*, 58, 177, (1958).
- (50) T.W. HEALVY, V.K. LAMER, *J. Phys. Chem.*, 66, (1835).
- (51) G. HECHT, H. WESSE, *Munich. Med. Wach.*, 90, 11, (1943).
- (52) W. HELLER, T.L. PUGH, *J. Polymer. Sci.*, 47, 219, (1960).
- (53) C.A.J. HOEVE, E.A. DIMARZIO, P. PEYSER, *J. Chem. Phys.*, 42, 2558, (1965).
- (54) A. HURBIN, *Thèse doct. ès Sciences Physiques Montpellier* (1966).
- (55) H. JESSICA et coll., *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 116, 120, (1964).
- (56) B. JIRGENSONS, *Makromol. Chem.*, 6, 30, (1951).
- (57) B.W. JONES et coll., *Abstracts of papers p. 13*, (1954).
- (58) E.D. KRAEMER, *Colloid. Symp. Monograph.*, 4, 102, (1926).

- (59) P. KRATOCHVIL, *J. Colloid. Interf. Sci.*, 29, 187, (1969).
- (60) P. KRATOCHVIL, *Collect. Czechoslov. Chem. Comm.* 30, 1119, (1965).
- (61) D.W. KUPKE, *Adv. Protein. Chem.* C.B. Anfinsen ed., Vol. 15, Academic. Press. New York, (1950).
- (62) W.D. LANSING, E.D. KRAEMER, *J. Am. Chem. Soc.*, 57, 1369, (1935).
- (63) T. LAURENT, J. KILLANDER, *J. Chromatog.*, 14, 317, (1964).
- (64) R. LEFAUX, *Toxicologie des composés macromoléculaires Masson et Cie Ed.* p. 29, (1952).
- (65) H. LESTER et coll., *J. Phys. Chem.*, 58, 953, (1954).
- (66) S.M. LEVI, T.K. STEPANOVA, *Kolloidnyi Zhurnal.*, 27, 57, (1965).
- (67) S.M. LEVI, T.K. STEPANOVA, *Colloid. J. USSR.*, 27, 42, (1965).
- (68) J. LYKLEMA, *Advan. Colloid. Interface. Sci.*, 2, 65, (1968).
- (69) E.L. MARKOR, *J. Colloid. Sci.*, 6, 492, (1951).
- (70) N.V.B. MARSDEN, *Am. New York. Acad. Sci.*, 125, 428, (1965).
- (71) E.J. MEEHAN, W.H. BEATTIE, *J. Phys. Chem.*, 65, 1522, (1961).
- (72) D.J. MEIER, *J. Phys. Chem.*, 71, 1861, (1967).
- (73) G. MIE, *Ann. Physik.*, 25, 377, (1908).
- (74) W.O. MILLIGAN, R.H. MORRIS, *J. Am. Chem. Soc.*, 86, 3461, (1964).
- (75) D.L. MORRIS, *Science.*, 107, 254, (1948).
- (76) E.E. MORSE, *Anal. Chem.*, 19, 1012, (1947).

- (77) K. MOTOMURA, R. MATUURA, *Mem. Fac. Sci. Kyushin. Univ.*, 6, 97, (1968) et *J. Chem. Phys.*, 50, 1281, (1969).
- (78) J. NEEL, B. SEBILLE, *J. Chim. Phys.*, 58, 738, (1961).
- (79) R.E. NEUMAN, *Arch. Biochem.*, 24, 289, (1949).
- (80) V.N. OREKHOVITCH, V.O. SHPIKITER, *Vopr. Med. Kim.*, 4, 70, (1952).
- (81) S.M. PARTRIDGE, *Biochem.*, 43, 387, (1948).
- (82) H.S. PEISER, *X. Ray diffraction by polymers polycrystalline materials*, Chapman-Hall. Londres (1960).
- (83) C. PETERSON, T.K. KWEI, *J. Phys. Chem.*, 65, 1330, (1961).
- (84) PORATH, P. FLODIN, *Nature.*, 183, 1657, (1959).
- (85) J. POURADIER, *Chemia.*, 21, 560, (1967).
- (86) J. POURADIER, *J. Chim. Phys.*, 76, 779, (1961).
- (87) J. POURADIER, A.M. MAILLET, B. CERISY, *J. Chim. Phys.*, 476, (1966).
- (88) J. POURADIER, J. ROMAN, *Sci. Ind. Phot.*, 23, 4, (1952).
- (89) J. POURADIER, A.M. VENET, *J. Chim. Phys.*, 47, 391, (1950).
- (90) J. POURADIER, A.M. VENET, *J. Chim. Phys.*, 47, 11, (1950).
- (91) R. REED, *J. Soc. Leather. Trades Chem.*, 37, 75, (1953).
- (92) W. REPPE, *Angero. Chem.*, 65, 577, (1953).
- (93) R.V. RICE, *Proc. Natl. Acad. Sci.*, 46, 1186, (1960).
- (94) A. ROUSSELOT, *Chim. Ind.*, 74, 669, (1955).

- (95) E.P. SAMSEL, R.A. DELAP., *Anal. Chem.*, 23, 1795, (1951).
- (96) B. SEDLACEK, *Czech. Chem. Comm.*, 20, 278, (1955).
- (97) F.R. SENTI et coll., *J. Polymer. Sci.*, 17, 527, (1955).
- (98) G. SCATCHARD, *Amer. Scientist.*, 40, 61, (1952).
- (99) H.E. SCHULTZE, J.F. HEREMANS, *Mol. Biol. of Human Protein Elviesier*, 1, 10, (1966).
- (100) A. SILBERBERG, *J. Phys. Chem.*, 66, 1872, (1962). 46, 1105, (1967). 48, 2835 (1968).
- (101) SKRYLOV, KATILINA, *Coll. J. USSR.*, 27, 748, (1965).
- (102) P. SQUIRE, *Arch. Biochem. Biophys.*, 107, 471, (1964).
- (103) A.J. STAVERMAN, *Rec. Trav. Chim.*, 70, 344, (1951).
- (104) N.W. TAYLOR et coll., *J. Phys. Chem.*, 65, 1810, (1961).
- (105) B. TEZAK, E. MATIJEVIC, K. SCHULZ, *J. Phys. Colloid. Chem.*, 69, 1557, (1951).
- (106) H. THIELE, H.S. VON LEVERN, *39th National Coll. Symp. preprints of paper. J. Coll. Sci.*, p. 41, (1965).
- (107) A. TROY, J.R. SCOTT, E.H. MELVIN, *Anal. Chem.*, 25, 1657, (1953).
- (108) E.F. TULLER, E.J. FULHER, *J. Phys. Colloid. Chem.*, 52, 787, (1948).
- (109) J. TURKEVITCH et coll., *J. Colloid. Sci. Suppl. E* 26, (1954).
- (110) J. TURKEVITCH, *Amer. Scientist.*, 47, 97, (1959).
- (111) A. VEIS, *Macromol. Chem. Gelatin. Academic. Press.*, (1964).
- (112) A. VEIS, J. COHEN, *Nature.*, 186, 720, (1960).

- (113) A. VEIS, J. NESEY, J. COHEN, *Arch. Biochem. Biophys. Acta.*, 94, 20, (1961).
- (114) E.J.W. VERWEY, J.Th.G. OVERBEEK, *Theory of stability of lyophobic Colloïd Amsterdam. Elvesier* (1948).
- (115) F.J. VILES, L. SILVERMAN, *Anal. Chem.* 21, 950, (1949).
- (116) A.J. DE VRIES, *Makromol. Chem. Prague.*, (1965).
- (117) K.E. WILZBACH, *J. Am. Chem. Soc.*, 79, 1013, (1957).
- (118) J.R. WHITAKER, *Anal. Chem.*, 35, 1950, (1963).
- (119) I.A. WOLFF et coll., *Ind. Eng. Chem.* 46, 370, (1954).
- (120) G. WATELLE MARION, *Notes techniques ministère de l'air n° 87*, (1960).
- (121) WARD, *Brit. J. Phys. Appl.*, 5, 85, (1954).
- (122) C.A. WILHAM et coll., *Arch. Biochem. Biophys.*, 59, 61, (1955).
- (123) WIPPLER, SCHEIBLING, *J. Chim. Phys.*, 51, 201, (1954).
- (124) ZIMM, *J. Chem. Phys.*, 16, 1093, (1948).
- (125) R. ZSIGMONDY, *Leipzig. Anal.* 301, 30, (1898).
z. Anal. Chem. 40, 711, (1901).
- (126) R. ZSIGMONDY, *Traité de chimie colloïdale Dunod Paris.*, (1926).

TABLE DES MATIERES

	Pages
LA STABILISATION DES COLLOIDES HYDROPHOBES	1
Les effets électrostatiques	2
L'attraction de VAN DER WAALS	5
Les effets des couches de polymères adsorbés à la surface des éléments dispersés	6
BUT DU TRAVAIL	15
SYSTEMES ETUDIES	17
CH. I : CARACTERISATION DES STABILISANTS	19
La gélatine	19
Le dextran	24
La polyvinyl pyrrolidone	26
CH. II : MISE EN EVIDENCE ET DOSAGE DES STABILISANTS	29
Mise en évidence des composés macromoléculaires	29
I – Gélatine	29
II – Dextran	31
1) Spectrographie ultraviolette	31
2) Chromatographie de partage en couche mince	32
Dosages	33
I – Dosage de la gélatine	34
II – Dosage du dextran	34
1) Polarimétrie	34
2) Réaction chimique à l'Anthrone	37

CH. III : DETERMINATION DES MASSES MOLECULAIRES	39
Diffusion lumineuse	40
I — Méthode	40
II — Résultats	44
1) Gélatine	44
2) Dextran	48
3) Polyvinyl pyrrolidone	49
CH. IV : COLLOIDES MINERAUX	53
Principes généraux de la préparation des colloïdes	53
I — Préparation du colloïde d'or	54
1) Le glucose	54
2) Le formol	55
3) Obtention de colloïdes de petite dimension	58
4) Obtention de colloïdes de grande dimension	60
II — Préparation du bromure d'argent colloïdal à l'état naissant	60
TESTS DE STABILITE	61
CH. V : TESTS DE STABILITE	63
Principe du test proposé	64
I — Conditions expérimentales	64
II — Expression des résultats	64
Application au colloïde de bromure d'argent	66
Résultats	66
Application au colloïde d'or	69
Résultats	69
Interprétation qualitative du test proposé	69
I — Détermination de la valeur protectrice selon THIELE	70
II — Comparaison des tests de floculation — Etude au microscope électronique	71
Essais d'interprétation quantitative du test	73
I — Indice de stabilisation	73
II — Valeur protectrice	74
Conclusion	75

ETUDE DE QUELQUES FACTEURS STERIQUES DE LA STABILISATION	76
CH. VI : FACTEURS STERIQUES	77
Effet de la concentration	78
I — Etude du colloïde de bromure d'argent	78
1) Conditions expérimentales	78
2) Résultats	81
II — Etude du colloïde d'or	81
1) Conditions expérimentales	81
2) Résultats	82
Effet de la masse moléculaire	82
I — Etude du colloïde de bromure d'argent	85
1) Conditions expérimentales	85
2) Résultats	87
II — Etude du colloïde d'or	89
1) Conditions expérimentales	89
2) Résultats	91
III — Analyse des résultats	93
Effet de la dimension micellaire	95
I — Gélatine - or	96
1) Conditions expérimentales	96
2) Résultats	96
II — P.V.P. - or	97
1) Conditions expérimentales	97
2) Résultats	97
Discussion	98
MISE EN EVIDENCE DE LA COUCHE PROTECTRICE	101
CH. VII : MISE EN EVIDENCE DE LA COUCHE PROTECTRICE	103
Obtention et purification des macromolécules marquées	104
I — Le dextran	104
1) Dextran *80	104
2) Dextran *20	104
II — Gélatine	105
1) Obtention	105

2) Purification	106
Evaluation de la masse moléculaire des composés marqués	109
I — Principe de l'étalonnage	109
II — Etalonnage des colonnes	111
Caractérisation des échantillons étalons	112
1) Détermination des masses moléculaires en poids Mw	112
2) Détermination des masses moléculaires en nombre Mn	113
A) Rappel théorique	113
B) Mesures	114
3) Diagrammes d'élution des échantillons étalons	116
4) Calcul numérique	118
5) Résultats de l'étalonnage	120
III — Application — Masses moléculaires des molécules marquées	120
1) Diagramme d'élution	120
2) Interprétation des diagrammes d'élution en masse moléculaire	122
Conclusions	122

CH. VIII : EVALUATION DIRECTE DE LA QUANTITE DE

MACROMOLECULES FIXEE SUR LE COLLOIDE MINERAL	125
Interaction — Dextran — Or	125
I — Chromatographie sur gel poreux	125
1) Conditions expérimentales	125
2) Résultats	125
II — Chromatographie de partage en couche mince	127
1) Conditions expérimentales	127
2) Résultats	129
Interaction — Gélatine — Or	129
1) Conditions expérimentales	130
2) Résultats	130
3) Analyse des résultats	132
Essai de contrôle de la couche protectrice par microscopie électronique	137

DISCUSSION ET CONCLUSION	139
CH. IX : DISCUSSION SUR LES FACTEURS DE LA	
STABILISATION	141
I – Le colloïde d'or	141
II – Examen des résultats	145
CONCLUSION	149
BIBLIOGRAPHIE	151

Réalisation
SUD-EST TRADUCTION
83 - HYERES

